

Aus dem Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. Th. Schliesser

Über das Vorkommen von Antikörpern gegen Mumpsvirus,
Parainfluenza-1-, -2-, -3-Virus, Echovirus Typ 6 und 9
sowie Herpesvirus canis bei Hunden

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Wolfgang Heimann
Tierarzt aus Schweidnitz

Gießen 1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. Th. Schliesser

**Über das Vorkommen von Antikörpern gegen Mumpsvirus,
Parainfluenza-1-, -2-, -3-Virus, Echovirus Typ 6 und 9
sowie Herpesvirus canis bei Hunden**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Wolfgang Heimann
Tierarzt aus Schweidnitz

Gießen 1973

Mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin
in Gießen

Dekan: Prof. Dr. E. Weiss

Berichterstatter: Prof. Dr. Th. Schliesser

Tag der mündlichen Prüfung: 3. April 1973



Meinen Eltern
in Dankbarkeit
gewidmet

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
1. <u>Einleitung</u>	1
2. <u>Übersicht über die bisher bekannten Virus- infektionen bei Hunden nach dem Schrifttum</u>	2
3. <u>Paramyxovirusinfektionen bei Hunden</u>	
3.1. Schrifttum	8
3.1.1. Mumps	8
3.1.2. Parainfluenza-1	11
3.1.3. Parainfluenza-2	12
3.1.4. Parainfluenza-3	16
3.2. Eigene Untersuchungen	17
3.2.1. Material und Methode	17
3.2.2. Ergebnisse der Untersuchungen	25
3.2.3. Besprechung der Ergebnisse	41
4. <u>Enterovirusinfektionen bei Hunden</u>	
4.1. Schrifttum	44
4.2. Eigene Untersuchungen	45
4.2.1. Material und Methode	45
4.2.2. Ergebnisse der Untersuchungen	47
4.2.3. Besprechung der Ergebnisse	48
5. <u>Infektionen mit Herpesvirus canis</u>	
5.1. Schrifttum	50
5.1.1. Vorkommen und Verbreitung	50
5.1.2. Eigenschaften des Erregers	50
5.1.3. Virusanzüchtung	52
5.1.4. Serologischer Nachweis	54
5.1.5. Klinisches Bild	55
5.1.6. Pathologisches Bild	58
5.1.7. Histopathologisches Bild	60
5.1.8. Pathogenese	64

	Seite
5.2. Eigene Untersuchungen	70
5.2.1. Material und Methode	70
5.2.2. Ergebnisse der Untersuchungen	74
5.2.3. Besprechung der Ergebnisse	75
6. <u>Zusammenfassung</u>	77
7. <u>Literaturverzeichnis</u>	79
8. <u>Lebenslauf</u>	

1. Einleitung

Untersuchungen der letzten Jahre haben gezeigt, daß viele Viren, denen bislang besondere Bedeutung als Infektionserreger beim Menschen zukam, auch bei Hunden nachgewiesen werden konnten. Da der Hund in relativ engem Kontakt zum Menschen lebt, liegt es nahe, nachzuprüfen, welche Bedeutung diese Tierart für die Epidemiologie bestimmter Virusinfektionen besitzt.

Da meines Wissens in der BRD noch keine entsprechenden Untersuchungen durchgeführt wurden, begann ich zunächst mit der Klärung der Frage, in welchem Umfang mit Antikörpern gegen Mumps- und nahe verwandte Parainfluenza-1-, -2- und -3-Viren sowie gegen die Enteroviren Echo 6 und 9 zu rechnen ist.

Darüber hinaus untersuchte ich Hundeseren auf Antikörper gegen das Herpesvirus canis, das in der BRD bisher noch nicht isoliert werden konnte.

2. Übersicht über die bisher bekannten Virusinfektionen bei Hunden

Lange Zeit kannte man bei Hunden nur die bedeutsamen Virusinfektionskrankheiten Staupe, Hepatitis contagiosa und Tollwut. Durch die Einführung der modernen Gewebekulturtechnik und neuer Seroreaktionen in die angewandte und experimentelle Virologie konnten viele virale Erkrankungen von Mensch und Tier ätiologisch und pathogenetisch aufgeklärt werden. Doch erst seit Anfang der sechziger Jahre wurden aus Hunden weitere Viren der verschiedensten Gruppen isoliert.

In den Tabellen 1 und 2 sind - nach Virusgruppen geordnet - die bislang beim Hund direkt (durch Erregerisolierung) oder indirekt (serologisch) nachgewiesenen Infektionen mit RNS- oder DNS-haltigen Viren aufgeführt. Sie wurden nach Angaben von BINN (1970), CLAPPER (1970) und GELFAND (1961) zusammengestellt.

Tabelle 1: Übersicht über die bisher beim Hund direkt oder indirekt nachgewiesenen Infektionen mit RNS-haltigen Viren (n.Lit.-Angaben)

Virusgruppe	Name des Virus bzw. d. Krank- heit	Virusiso- lierung aus	Anti- kör- per- nach- weis	Krank- heits- symp- tome	Wirte
Arboviren, Gruppe A	Eastern equine encephalitis	Gehirn	+	+	Pferd, Vögel,
	Western equine encephalitis	Gehirn	+	+	Mensch, Hund
Bunyamwera	Tensaw	Blut	+	-	Mensch, Hund
Rhabdoviren	Tollwut	Gehirn, Speichel, Speichel- drüsen	+	+	Fuchs, Hund, Skunk, Fleder- maus u.a.
Myxoviren	Influenza A ₁	-	+	-	Mensch, Pferd, Schwein
	Influenza A ₂	-	+	-	Mensch, Pferd
	Influenza B	-	+	-	Mensch
	Influenza C	-	+	-	Mensch

(Forts. S. 4)

Tabelle 1: (1. Fortsetzung)

Virusgruppe	Name des Virus bzw. d. Krank- heit	Virusiso- lierung aus	Anti- kör- per- nach- weis	Krank- heits- symp- tome	Wirte
Paramyxo- viren	Staupe	Naso- pharynx, Blut, Lunge, Milz	+	+	Hund, Nerz, Skunk, Wasch- bär
	Mumps	Speichel	+	+	Mensch
	Parainfluenza (PI)-1	-	+	-	Mensch, Maus, Hamster, Schwein
	PI-2 (inkl. SV-5 bzw. DA-Virus)	Respira- tions- trakt, Le- ber, Milz, Niere	+	+	Affe, Mensch, Hund,
	PI-3 (HA-1 u. SF)	-	+	-	Mensch, Rind
Entero- viren	Poliovirus 1	Kot	+	-	Mensch
	Echo 6	Naso- pharynx, Kot	+/-	-	Mensch
	Echo 6,7,8, 9 und 12	-	+	-	Mensch

(Forts. S. 5)

Tabelle 1: (2. Fortsetzung)

Virusgruppe	Name des Virus bzw. d. Krank- heit	Virusiso- lierung aus	Anti- kör- per- nach- weis	Krank- heits- symp- tome	Wirte
	Coxsackie A ₉	-	+	-	Mensch
	Coxsackie A ₂₀	-	+	-	
	Coxsackie B ₁	Naso- pharynx, Kot	-	-	
	Coxsackie B ₂	-	+	-	
	Coxsackie B ₃	Naso- pharynx, Kot	+	-	
	Coxsackie B ₅	Naso- pharynx, Kot	+	-	
Reoviren	Typ 1	Naso- pharynx, Kot, Lunge	+	+	Rind, Mensch, Hund
	Typ 2	-	+	-	Mensch

Tabelle 2: Übersicht über die bisher beim Hund direkt oder indirekt nachgewiesenen Infektionen mit DNS-haltigen Viren (n.Lit.-Angaben)

Virusgruppe	Name des Virus bzw. d. Krank- heit	Virusiso- lierung aus	Anti- kör- per- nach- weis	Krank- heits- symp- tome	Wirte
Adenoviren	Hepatitis con- tagiosa canis	Naso- pharynx, Kot, Harn, Blut, Leber, Niere	+	+	Hund, Fuchs
	Toronto A 26/61	Naso- pharynx, Lunge	+	+	Hund
Papovaviren	Orales Papil- lom d. Hundes	Papillom	+	+	Hund
Herpesviren	Pseudowut	Gehirn	+	+	Schwein, Hund
	Herpesvirus canis	Naso- pharynx, Blut, Lun- ge, Niere, Milz, Leber	+	+	Hund
Parvo- (Picodna)- Virus	Minute virus	Kot	+	-	Hund

Wie die Tabellen 1 und 2 zeigen, konnten aus Hunden viele Viren isoliert werden, als deren Hauptwirt andere Tierarten und vor allem der Mensch anzusehen sind. Der Nachweis dieser Viren war entweder mit dem Auftreten von Krankheitssymptomen verbunden oder aber die Tiere erschienen klinisch gesund. Teilweise konnte der direkte Erregernachweis durch den gleichzeitigen Nachweis eines Antikörpertiters ergänzt werden, teilweise fehlte - trotz Virusisolierung - ein serologischer Hinweis auf ein Infektionsgeschehen. Andererseits waren weitere mögliche Virusinfektionen lediglich durch einen Antikörpertiter feststellbar.

Das Herpesvirus canis wurde bislang nur aus Hunden isoliert. In menschlichen Seren konnten aber neutralisierende Substanzen gegen dieses Virus nachgewiesen werden (LUNDGREN u. CLAPPER, 1969).

Im folgenden wird ein Überblick über das vorhandene Schrifttum gegeben, das sich auf einige Paramyxovirus(Mumps, PI)-, Enterovirus(Echo, Coxsackie)- und auf Herpesvirus canis-Infektionen bei Hunden bezieht. Jedem einzelnen Abschnitt schließen sich die Beschreibung der eigenen Untersuchungen und die Besprechung der Ergebnisse an.

3. Paramyxovirusinfektionen bei Hunden

3.1. Schrifttum

Die weitaus wichtigste, durch ein Paramyxovirus verursachte canine Infektionskrankheit stellt die Hundestaupe dar, auf die hier jedoch nicht eingegangen wird.

Infektionen des Hundes mit anderen Viren der gleichen Erregergruppe treten offenbar weit in den Hintergrund. Es liegen nur einzelne Arbeiten vor, die sich mit virologisch oder serologisch nachgewiesenen Mumps- oder Parainfluenzavirusinfektionen bei Hunden beschäftigen.

3.1.1. Mumps

Das Mumpsvirus ist als Erreger der Parotitis epidemica bei Kindern bekannt und weit verbreitet. Ein ähnliches Krankheitsbild epizootisch auftretender Parotitiden wurde auch bei Hunden in der Literatur wiederholt beschrieben (zit. bei BEHRENS, 1967). Ob es sich dabei aber um selbständige Erkrankungen oder z.T. um echte Mumpsinfektionen handelte, konnte nicht abgeklärt werden.

NOICE et al. (1959) beschrieben als erste und bisher einzige die erfolgreiche Isolierung von Mumpsvirus aus zwei Hunden, die das klinische Bild einer typisch ausgeprägten Mumpsinfektion zeigten und nachweislich engen Kontakt mit mumpskranken Kindern hatten. Bei beiden 3 bzw. 6 Monate alten Tieren äußerte sich die Erkrankung in einer deutlichen Schwellung der Parotis mit Kaubeschwerden, Inappetenz und Abgeschlagenheit. Während ein Hund die Krankheit überlebte, starb der andere innerhalb von 10 Tagen.

Aus Speichelproben der beiden Tiere konnte das Mumpsvirus isoliert werden. Die Virusanzüchtung erfolgte in 6 Tage alten embryonierten Hühnereiern nach Dottersackbeimpfung.

6 bis 8 Tage nach der Inokulation war ein Teil der Embryonen abgestorben. Die Allantoisflüssigkeit zeigte Hämagglutination, die durch menschliches Anti-Mumps-Serum inhibiert werden konnte.

Bei dem Tier, das die Krankheit überlebte, wurden 2 Serumproben entnommen. Die erste Probe zum Zeitpunkt der klinischen Erkrankung, die zweite während der Rekonvaleszenz. Die serologische Untersuchung ergab einen Anstieg der komplementbindenden Mumps-Antikörper von negativ auf einen Titer, der bei 1:32 lag.

STONE (1969) untersuchte 7 Hunde mit meningoenzephalitischen Erscheinungen. Die Symptomatik war von Fall zu Fall unterschiedlich. Es wurden folgende Krankheitszeichen beobachtet: Fieber, Konvulsionen, tonisch-klonische Krämpfe einzelner Muskelgruppen, Bewegungsstörungen und Reflexanomalien. - In einem Fall wurde nach Euthanasie das Gehirn einschließlich der Hirnhäute mikroskopisch untersucht. Die Histopathologie entsprach dem Bild einer nichteitrigen Meningitis. - Virusisolierungsversuche aus dem Speichel der 7 Patienten verliefen negativ. Bei serologischen Untersuchungen mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion (KBR) konnten jedoch in allen Fällen positive Reaktionen mit Mumpsantigen festgestellt werden. Zum größten Teil deuteten diese Befunde auf eine weiter zurückliegende Mumpsinfektion hin, als deren Spätfolge die meningoenzephalitischen Erscheinungen möglicherweise zurückzuführen wären. In einem Fall wurde innerhalb von 14 Tagen vom Zeitpunkt der klinischen Symptome bis zur Rekonvaleszenz ein Anstieg des Antikörpertiters um das Vierfache nachgewiesen.

MORRIS et al. (1956) infizierten 4 Hunde intraparotideal mit hochpassagiertem Mumpsvirus. Die Tiere erkrankten nicht; aus ihrem Speichel konnte das Virus nicht reisoliert werden. Serologisch jedoch wurden komplementbindende Antikörpertiter von

1:8 bis 1:32 und hämagglutinationshemmende(HAH) Antikörpertiter von 1:80 bis 1:320 ermittelt.

Bei allen weiteren in der Literatur beschriebenen Untersuchungen handelt es sich nicht um kasuistische Beiträge, sondern um Arbeiten über den Nachweis der Häufigkeit von Antikörpertitern in mehr oder weniger willkürlich ausgewählten Hundeserumproben. Diese Befunde sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3: Nachweis von Antikörpertitern gegen das Mumpsvirus in Hundeseren

Anzahl der untersuchten Seren	Serolog. Methode	Anzahl der positiven Reagenten (%)	Titer	Autoren
323	KBR	0 (0)	-	LUNDGREN et al.(1969)
209	KBR	38 (18)	1:4 bis 1:128	MORRIS et al.(1956)
100	HAH-Test	100 (100)	?	CUADRADO (1965)

3.1.2. Parainfluenza-1

Alle Parainfluenzavirustypen können bei Kindern ein breites Spektrum von Erkrankungen des Respirationstrakts hervorrufen.

Das PI-1-Virus Subtyp HA-2 hat besondere Bedeutung als Erreger von leichten oder schweren Infektionen der oberen Atemwege, während Infektionen der unteren etwas zurücktreten. In allen größeren Untersuchungsreihen überwiegt Typ 1 als Erreger des Parainfluenzagrupp bei Kindern (GERTH, 1969).

Der Serotyp Sendai ist dem Subtyp HA-2 serologisch sehr nahe verwandt und gilt als Vertreter animaler PI-1-Virusstämme. Das Sendaivirus verursacht nachweislich latente Infektionen bei Mäusen und Schweinen; andererseits wurde es auch aus Schweinen mit respiratorischer Erkrankung isoliert und erwies sich im Experiment für 2 Tage alte Ferkel als pathogen (GUENOV u. FAVLOV, 1972). Die Pathogenität dieses Subtyps für den Menschen ist ungewiß oder bisher nicht eindeutig zu beweisen (GERTH, 1969). Aus gesunden oder respiratorisch erkrankten Hunden war bislang kein PI-1-Virusstamm zu isolieren. Es liegen lediglich einige Untersuchungen zum Nachweis der Häufigkeit von Antikörpertitern gegen HA-2- oder Sendai-Antigene in willkürlich ausgewählten Serumproben vor. Diese Befunde werden in Tabelle 4 zusammengefaßt.

Korrelationen zwischen festgestellten Antikörpertitern und beobachteten Krankheitserscheinungen wurden nicht ermittelt.

Tabelle 4: Nachweis von Antikörpertitern gegen
Parainfluenza-1-Antigene in Hundeseren

Anzahl der untersuch- ten Seren	Serolog. Methode	Anzahl der positiven Reagenten (%), Virussubtyp	Titer	Autoren
627	HAHT	1 (0,16) HA-2 5 (0,8) Sendai	1:10 bis 1:40	LUNDGREN et al. (1969)
109	HAHT	4 (3,7) Sendai	1:8 bis 1:32	SANDOW et al. (1967)
777	HAHT	0 (0) HA-2 0 (0) Sendai	-	CLAPPER (1970)
100	HAHT	14 (14) ?	?	CUADRADO (1965)

3.1.3. Parainfluenza-2

Parainfluenzavirus Typ 2, das als CA-Virus (Croup associated virus) erstmals bei Kindern mit Pseudokrapp isoliert wurde, gilt als Erreger von Infektionen der oberen und unteren Atemwege besonders bei Kindern und gelegentlich bei Erwachsenen (GERTH, 1969).

Das sog. DA-Virus, das ebenfalls den Parainfluenza-2-Viren zugeordnet wird, ist identisch mit dem Simian Virus(SV)-5, einem häufig anzutreffenden latenten Erreger in Affenzellkulturen. Das DA-Virus wurde von HSIUNG (1959) aus humanen

Gewebe isoliert; eine Pathogenität für den Menschen wird diskutiert.

BINN et al. (1967) führten Virusisolierungsversuche bei einer großen Zahl von Hunden durch. 75 klinisch gesund erscheinende Tiere verschiedenster Herkunft und Rasse wurden in Vierergruppen aufgeteilt und in einem gemeinsamen Raum untergebracht. Während einer Beobachtungszeit von 6 Wochen entwickelten 53 Hunde deutliche Anzeichen einer respiratorischen Erkrankung, die sich nach 4 bis 10 Tagen ausbildete und 4 Wochen andauerte. 10 der 53 erkrankten Tiere starben an einer histopathologisch nachweisbaren Krankheit des Respirationstrakts.

Aus Rachentupferproben und Organmaterial dieser Tiere konnte neben einer Anzahl anderer Virusarten (Adenovirus "Toronto A 26/61", Virus der infektiösen Hepatitis, Herpesvirus canis) erstmals ein hämadsorbierendes Agens isoliert werden, das sich als sehr nahe verwandt oder identisch mit dem SV-5-Virus erwies und somit als PI-2-Virus anzusprechen wäre. Bei der serologischen Identifizierung des Virusisolates zeigte sich, daß es zwar zur Kreuzneutralisation mit dem SV-5-Virus kam, jedoch nicht mit dem verwendeten humanen PI-2-Stamm "Greer".

Ein ätiologischer Zusammenhang zwischen dem isolierten Parainfluenzavirus und den beobachteten Krankheitszeichen konnte nicht hergestellt werden, da es sich bei fast allen Fällen um Mischvirusinfektionen handelte und in keiner einzigen Serumprobe Antikörpertiter gegen das SV-5-ähnliche Agens nachweisbar waren. Demgegenüber bildeten künstlich mit dem Agens infizierte Hunde Antikörper sowohl gegen das Impfvirus als auch gegen den SV-5-Referenzstamm, obwohl keines der Tiere erkrankte.

BINN et al. (1968) untersuchten 176 1-2jährige Deutsche Schäferhunde, die in einem amerikanischen Militärlager in Gemeinschaftszwingern gehalten und für militärische Zwecke

ausgebildet wurden. Unter den Tieren trat enzootisch eine Infektion der oberen Luftwege auf, wobei 59 Hunde klinisch erkrankten. Als Krankheitssymptome wurden paroxysmaler trockener Husten, seröser bis mukopurulenter Nasenausfluß, Abgeschlagenheit, in einigen Fällen verschärftes Vesikuläratmen und Fieber beobachtet. Von den kranken, wie auch von den Kontakt- und Kontrollhunden wurden Rachentupfer- sowie Kot- und Blutproben entnommen. Aus den Rachentupfern konnte in 4 Fällen hämadsorbierendes Virus isoliert werden, das durch Anti-SV-5-Serum neutralisierbar war. Die Antikörpertiter gegen das Virusisolat lagen bei den betreffenden Tieren zum Zeitpunkt der Isolierung bei 1:4 oder niedriger und zeigten bis zur 2. Blutentnahme nach 4 Wochen einen deutlichen Anstieg. Das isolierte Virus wies Kreuzreaktionen nur mit SV-5-Referenzserum auf, nicht aber mit Sendai-, Parainfluenza-2(Greer)-, Parainfluenza-3(HA-1 und SF 4)-, Newcastle disease- und Mumpsserum.

Von 84 ausgesuchten Hunden (39 kranke Tiere, 26 Kontakt- und 19 Kontrollhunde) zeigten 70 bis 80 % schon zu Beginn der Untersuchungen SV-5-Antikörpertiter, einen Monat später waren es 100 %. Bei 46 % der kranken Hunde, 31 % der Kontakt- und 16 % der Kontrolltiere wurden deutliche Titeranstiege verzeichnet, wobei die Titer der kranken und Kontakttiere zweibis dreimal höher lagen, als die der Kontrollhunde.

CRANDELL et al. (1968) sowie APPEL et al. (1970) bestätigen die geschilderten Befunde von BINN et al. (1968) im wesentlichen; darüber hinaus beschreiben APPEL et al. (1970) das pathologische Bild einer SV-5-Infektion bei Hunden:

Der Respirationstrakt wirkt 3 bis 4 Tage p.i. makroskopisch unverändert, abgesehen von einigen Petechien in der Lunge. Histologisch fielen entzündliche Veränderungen in den oberen und unteren Atemwegen sowie in den regionären Lymphknoten auf, besonders wenn die Hunde erst 6 bis 12 Tage p.i. untersucht wurden. Charakteristisch war eine katarrhalische Entzündung der Nasenschleimhaut, die mikroskopisch zel-

lig infiltriert erschien. Die Trachea enthielt Schleim mit Beimengungen von neutrophilen Leukozyten. In den Bronchien und Bronchiolen war - neben Leukozyten - Detritus desquamierter Zellen zu finden. Epithelzellhyperplasie verengte teilweise die respiratorische Fläche der Alveolen. Häufig infiltrierten lymphoretikuläre Zellen und neutrophile Granulozyten die Submukosa und Peribronchialdrüsen.

In Tabelle 5 sind die serologischen Befunde verschiedener Autoren, die den Nachweis von Antikörpern gegen Parainfluenza-2-Antigene in willkürlich ausgewählten Seren betreffen, zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 5: Nachweis von Antikörpertitern gegen Parainfluenza-2-Antigene in Hundeseren

Anzahl der untersuchten Seren	Serolog. Methode	Anzahl der positiven Reagenten (%), Virussubtyp	Titer	Autoren
627	HAHT	17 (2,7) Greer 8 (1,27) SV-5	1:10 bis 1:40	LUNDGREN et al. (1969)
18	NT	1 (5,56) Greer	$\geq 1:5$	derselbe
91	NT	4 (4,4) SV-5	$\geq 1:5$	
192	NT	(14) SV-5	$\geq 1:8$	BITTLE et al. (1970)
35 25 16 84	NT	10 (29) SV-5 0 (0) 12 (75) 64 (76)	$\geq 1:4$	BINN (1970)
100	HAHT	48 (48) DA	?	CUADRADO (1965)

3.1.4. Parainfluenza-3

PI-3-Infektionen führen beim Menschen häufiger zu Erkrankungen der unteren Atemwege und zu Bronchopneumonien als Infektionen mit PI-1- und -2-Viren. Erstinfektionen mit Typ 3 verlaufen im allgemeinen schwerer als solche mit Typ 1 und 2 (GERTH, 1969).

Auch bei Rindern kommt den PI-3-Viren eine besondere Bedeutung als Erreger respiratorischer Erkrankungen zu. 70 bis 80 % aller Rinder in der BRD reagieren serologisch mit PI-3-Antigen; in Hessen lag der Durchseuchungsgrad bei 80 % (KAMINJOLO et al., 1969).

Aus gesunden oder respiratorisch erkrankten Hunden konnte bisher PI-3-Virus nicht isoliert werden. Es liegen lediglich serologische Befunde aus mehr oder weniger willkürlich ausgewählten Hundeseren vor. Tabelle 6 faßt die Ergebnisse serologischer Untersuchungen verschiedener Autoren zusammen.

Tabelle 6: Nachweis von Antikörpertitern gegen
Parainfluenza-3-Viren in Hundeseren

Anzahl der untersuchten Seren	Serolog. Methode	Anzahl der positiven Reagenten (%), Virussubtyp	Titer	Autoren
20	NT	1 (5) HA-1	≥1:5	LUNDGREN et al. (1969)
627	HAHT	1 (0,16) HA-1	1:10 bis 1:40	
109	HAHT	8 (7,3) HA-1	1:8 bis 1:32	SANDOW et al. (1967)
100	HAHT	98 (98) ?	?	CUADRADO (1965)

3.2. Eigene Untersuchungen

3.2.1. Material und Methode

Antikörper gegen Paramyxoviren wiesen wir mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion (KBR) und des Hämagglutinationshemmungs(HAH)-Tests nach.

Antigene, die sowohl in der KBR als auch im HAH-Test verwendet wurden:

Mumps(Stamm Enders)- und Parainfluenza(PI)-1(Stamm Sendai)-Antigen aus der Allantoisflüssigkeit embryonierter Hühnereier. PI-2(Stamm Greer)- und PI-3(Stamm HA-1)-Antigen aus Affennierenzellkulturen.

Alle genannten Antigene wurden von der Firma "Flow Laboratories", Rockville, USA, bezogen.

Antigene, die zusätzlich für den HAH-Test verwendet wurden:

Mumps(Stamm Enders)-, PI-1(Stamm Sendai)- und PI-2-(Stamm Wagner und Enders-Ruckle 1966, vom Huhn)-Antigen in Form von hämagglutinierender Allantoisflüssigkeit embryonierter Hühnereier. SV-5-Antigen in Form von hämagglutinierender Gewebekulturflüssigkeit aus infizierten MDBK-Zellkulturen. Alle genannten Antigene wurden dankenswerterweise vom Institut für Virologie der Universität Gießen zur Verfügung gestellt.

Außerdem wurde ein bovines PI-3-Antigen der Fa. Rentschler u. Co., Laupheim, verwendet, das aus Rindernierenzellkulturen hergestellt wurde.

Mit Ausnahme des lyophilisierten bovinen PI-3-Antigens (Lagerung bei Kühlschranktemperatur) wurden sämtliche Antigene bei -60°C aufbewahrt.

Antiseren für die KBR

Als positive Kontrollseren für die KBR standen zur Verfügung:

Anti-Mumps(Stamm Enders)-, Anti-PI-1(Stamm Sendai)-, Anti-PI-2(Stamm Greer)- und Anti-PI-3(Stamm HA-1)-Serum von immunisierten Meerschweinchen (Fa. "Flow Laboratories", Rockville, USA).

Anti-Mumps(Stamm Enders)-Serum der Behringwerke, Marburg.

Antiseren für den HAH-Test

Als positive Kontrollseren für den HAH-Test wurden verwendet:

Anti-Mumps(Stamm Enders)-Serum vom Meerschweinchen, Anti-PI-1(Stamm Sendai)-, Anti-PI-2(Stamm Greer)- und Anti-PI-3(Stamm HA-1)-Serum von immunisierten Pferden (Fa. "Flow Laboratories", Rockville, USA).

Antiserum gegen bovines PI-3-Virus von immunisierten Kälbern (Fa. Rentschler u. Co., Laupheim).

Hundeseren

Für die Untersuchungen standen 400 willkürlich ausgewählte Hundeseren von Patienten der Medizinischen Veterinärklinik I der Universität Gießen zur Verfügung.

Menschenseren

Durch das Hygiene-Institut des Fachbereichs Humanmedizin der Universität Gießen wurden dankenswerterweise 96 Seren erwachsener Patienten für Kontrolluntersuchungen überlassen.

Alle Seren wurden bis zum Gebrauch bei -30°C konserviert.

Hämagglutinationshemmungs(HAH)-Test

Vorbehandlung der Seren: Zur Eliminierung unspezifischer Inhibitoren wurden die zu untersuchenden Seren nach dem von LAVER u. WEBSTER (1968) ausgearbeiteten Verfahren behandelt. Dazu wurde jeweils 0,2 ml Serum mit der gleichen Menge einer 0,4 %igen Trypsinlösung versetzt und 30 Minuten im Wasserbad bei 56°C inaktiviert. Anschließend ließ man 15 Minuten lang 0,6 ml einer 1/90 M Kaliumperjodatlösung bei Zimmertemperatur auf das Gemisch einwirken; die Reaktion wurde durch Zugabe von 1 ml einer 1 %igen Glycerin-Kochsalz-Lösung unterbrochen. Auf diese Weise wurden jeweils 2,0 ml einer Serumverdünnung von 1:10 erhalten.

Zur Entfernung von Isoagglutininen wurden 0,1 ml gepackte Testerythrozyten in 2,0 ml der 1:10 vorverdünnten Seren suspendiert und 30 Minuten bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Danach wurden die Erythrozyten durch Zentrifugation wieder sedimentiert (5 Minuten bei 2000 U). Die so gewonnenen Überstände dienten als Serumausgangsverdünnung für den Hauptversuch.

Antigentitration: Die betreffenden Mumps- und PI-Antigene wurden mit Hilfe des Hämagglutinations(HA)-Tests in der üblichen Weise titriert. Als Testerythrozyten verwendete ich 1 %ige Meerschweinchenerythrozytensuspension bzw. für die Titration des SV-5-Antigens 1 %ige Hühnererythrozytensuspension.

Die Antigentitrationen wurden entweder in Röhrchen oder auf Mikrotiter-Plexiglasplatten (Fa. "Cooke Engineering Company", Alexandria, Virginia, USA) durchgeführt. Dazu wurden die Antigene in Zweierpotenzen mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt und anschließend gleiche Volumina der Antigenverdünnungen (0,4 ml im Röhrchentest; 0,05 ml im Mikrotitersystem) mit gleichen Volumina der Erythrozytensuspensionen gemischt.

Die Reaktion fand bei 4°C im Kühlschrank statt.

Die Ergebnisse wurden abgelesen, sobald die Erythrozyten in der Kontrolle (NaCl-Lösung ohne Antigen) vollständig sedimentiert waren.

Beurteilung

Als negativ galt:

Ring- bzw. knopfförmige Ansammlung der nicht agglutinierten Erythrozyten auf dem Boden der Röhrchen bzw. der Plattenvertiefungen mit glattem Rand. Beim Schräghalten läuft der Ring bzw. Knopf zungenförmig aus.

Als positiv galt:

- + Ring- bzw. knopfförmige Ansammlung der teilweise agglutinierten Erythrozyten auf dem Boden der Röhrchen bzw. Plattenvertiefungen mit unregelmäßigem Rand. Beim Schräghalten läuft das Sediment nicht aus.
- ++ Ring- bzw. knopfförmige Sedimentation, um die fein oder grob verteilte Klümpchen agglutinierter Erythrozyten liegen, wodurch eine vom Sediment abgesetzte periphere Agglutinationszone entsteht.
- +++ Die agglutinierten Erythrozyten breiten sich als dünner Film gleichmäßig über den Boden der Röhrchen bzw. Plattenvertiefungen aus.

Als Endtiter wurde die höchste Antigenverdünnung angesehen, bei der noch eine vollständige Agglutination (+++) auftrat; diese Verdünnung entsprach einer hämagglutinierenden Einheit (HAE).

Einstellung des Antigens: Für den HAH-Test wurden 8 HAE Antigen verwendet, d.h. es wurde eine Gebrauchsverdünnung hergestellt, die pro Volumeneinheit die achtfache Antigenmenge des im HA-Test ermittelten Endtiters aufwies.

Hauptversuch (Serumtitration)

Der Hauptversuch wurde ebenfalls entweder in Röhrchen oder auf Mikrotiter-Plexiglasplatten (Fa. "Cooke Engineering Company", Alexandria, Virginia, USA) durchgeführt.

Zunächst wurde die Ausgangsverdünnung (1:10) der vorbehandelten Seren in Zweierpotenzen weiter verdünnt. Darauf wurden gleiche Volumina der Serumverdünnungen (0,2 ml im Röhrchentest; 0,025 ml im Mikrotitersystem) mit gleichen Volumina der ermittelten Antigengebrauchsverdünnung versetzt (8 HAE in 0,2 ml bzw. 0,025 ml). Die Reaktionsgemische wurden 1 Stunde bei Raumtemperatur gehalten. Danach wurden gleiche Volumina der Testerythrozytensuspensionen hinzugegeben (0,4 ml im Röhrchentest; 0,05 ml im Mikrotitersystem). Die Sedimentierung der Erythrozyten bzw. die Hämagglutination erfolgte bei 4°C im Kühlschrank. Von jeder Serumausgangsverdünnung wurde gleichzeitig eine Kontrolle angelegt, die anstelle des Antigens eine entsprechende Menge NaCl-Lösung enthielt.

Bei jedem Ansatz wurde das Antigen erneut titriert, um die hämagglutinierenden Einheiten (HAE) zu überprüfen.

Beurteilung der Reaktion

Die positive HAH-Reaktion wurde wie eine negative HA-Reaktion beurteilt, und umgekehrt.

Als Serumtiter wurde die Verdünnung angesehen, bei der noch keine positive HA-Reaktion sichtbar wurde, d.h. die noch eine vollständige Hemmung der Agglutination bewirkte.

Bewertung des Ergebnisses

HAH-Titer von 1:10 und darunter galten als negativ, solche von 1:20 und darüber als positiv, sofern die Serumkontrolle keine HA zeigte.

Komplementbindungsreaktion (KBR)

Die KBR wurde im Prinzip nach der von SEVER (1962) beschriebenen Mikrotechnik durchgeführt.

Als Komplement diente normales Serum gesunder, nicht trächtiger Meerschweinchen, das bei -70°C aufbewahrt wurde.

Sensibilisierte Erythrozyten (SE): Mit Alsever'scher Lösung konserviertes Hammelblut wurde 10 Minuten bei 3000 U/Min. zentrifugiert, der Überstand einschließlich des Leukozytensaumes entfernt, das Erythrozytensediment dreimal mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen und auf eine 2 %ige Suspension eingestellt, die zu gleichen Teilen mit 1:1000 verdünntem hämolytischen Ambozepter (Behringwerke, Marburg; angegebener Titer 1:4000) versetzt wurde. Die so sensibilisierten Erythrozyten werden in Gegenwart von Komplement gelöst und dienen deshalb als Indikator für den Komplementverbrauch.

Vorversuch (Makromethode)

Komplementtitration: Der Vorversuch wurde durchgeführt, um die Menge an Komplement zu finden, die noch eine vollständige Hämolyse bewirkte; diese Verdünnung enthielt eine Komplementprozenteinheit. Im Hauptversuch wurde später mit 2 Komplementprozent-einheiten gearbeitet.

Den Ablauf des Vorversuchs zeigt folgendes Schema:

Röhrchen-Nr.:	1	2	3	4	5	6	7
Komplement,							
1:10 verd.:	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1	0,075	0,05
physiol. NaCl:	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,425	0,45
Komplement-							
verdünnung:	6%	5%	4%	3%	2%	1,5%	1%

Jedem Röhrchen wurde 0,5 ml Antigen in der angegebenen Gebrauchsverdünnung zugesetzt. Nach einer Bebrütungszeit von 45 Minuten im Wasserbad bei 37°C wurde jeweils 0,5 ml sensibilisierter Erythrozyten hinzugegeben und anschließend 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Dann konnte der für den Hauptversuch erforderliche Komplementtiter abgelesen werden.

Hauptversuch (Mikrotechnik)

Die bei -30°C gelagerten Hundeseren wurden aufgetaut und 30 Minuten bei 56°C inaktiviert. Von jedem - im Kühlschrank wieder erkalteten - Serum wurde auf Plastikplatten mit Hilfe des Takatsy-Mikrodiluters eine Verdünnungsreihe von 1:5 bis 1:160 hergestellt (0,025 ml), die anschließend mit Antigen (0,025 ml) und Komplement (0,025 ml) versetzt wurde.

Der Ablauf des Hauptversuches sieht folgendermaßen aus:

Serumverdünnung:	1:5	1:5	1:5	1:10		1:160
NaCl (ml)	-	0,08	-	0,025		0,025
Serum (ml)	0,025	0,02	0,025	0,025		0,025
		←	→	→	→	
Antigenver-						
dünnung (ml)	0,025	-	0,025	0,025		0,025
NaCl (ml)	-	0,025	-	-		-
Komplementver-						
dünnung (ml)	-	0,025	0,025	0,025		0,025

Nach 12- bis 16stündiger Kältebindung bei 4°C und Hinzufügen von 0,05 ml der sensibilisierten Erythrozyten in jede Plattenvertiefung wurde bei 37°C mindestens 30 Minuten lang im Brutschrank inkubiert und dann die Ergebnisse abgelesen.

Beurteilung der Reaktion

- ++++ Starker Bodensatz mit klarem Überstand
- +++ Starker Bodensatz und sehr leichter Hämolyseschimmer des Überstandes
- ++ Schwächerer Bodensatz mit deutlicher Hämolyse des Überstandes
- + Leichter Bodensatz
- Vollständige Hämolyse ohne Bodensatz

Bewertung der Ergebnisse

KBR-Titer von 1:5 (+++ oder +++) und höher galten als positiv.

3.2.2. Ergebnisse der Untersuchungen

Spezifität der Antigene

Zur Überprüfung der antigenen Spezifität wurden verschiedene Paramyxovirusantigene im Kreuzversuch gegen die entsprechenden Kontrollseren untersucht. In den Tabellen 7 und 8 sind die Ergebnisse der Kreuzreaktionen im Mikrotitersystem zwischen den verwendeten Antigenen und bekannten Antiseren in der KBR und im HAH-Test dargestellt. - Die KBR konnte am klarsten abgelesen werden, wenn die Platten 45 Minuten im Brutschrank blieben, und der HAH-Test, wenn die Ansätze 30 Minuten im Kühlschrank gehalten wurden.

Tabelle 7: Kreuzreaktionen zwischen den verwendeten Antigenen und bekannten Antiseren im KBR-Mikrotitersystem

Antigene	Antiseren			
	Anti-Mumps	Anti-PI-1	Anti-PI-2	Anti-PI-3
Mumps (Enders)	40 ⁺	10	-	-
PI-1 (Sendai)	5	320	-	-
PI-2 (Greer)	-	5	160	-
PI-3 (HA-1)	-	5	-	80

+ reziproke Titerwerte

Tabelle 8: Kreuzreaktionen zwischen den verwendeten Antigenen und bekannten Antiseren im HAH-Mikrotitersystem

Antigene	Anti-Mumps	Anti-PI-1	Anti-PI-2	Anti-PI-3	Anti-PI-3 (Rentschler)
Mumps (Enders)	1280 ⁺	-	-	-	-
PI-1 (Sendai)	10	640	-	-	-
PI-2 (Greer)	-	-	320	-	-
PI-3 (HA-1)	10	10	10	1280	10
PI-3 (Rentschler)	-	-	-	20	640

+ reziproke Titerwerte

In der KBR (Tab. 7) zeigte das Mumpsantiserum (Behringwerke, Marburg) lediglich eine schwache Kreuzreaktion (1:5) mit dem heterologen PI-1(Sendai)-Antigen; das Anti-PI-1-Serum zeigte niedrige heterologe Titer mit Mumps-, PI-2- und PI-3-Antigen, während die Anti-PI-2- und Anti-PI-3-Seren keine Kreuzreaktionen mit den heterologen Antigenen erkennen ließen.

Wie aus Tabelle 8 ersichtlich ist, weisen die mit Kaliumperjodatlösung vorbehandelten kommerziellen Antiseren im HAH-Test teilweise Kreuzreaktionen mit einigen heterologen Antigenen auf, so das Anti-Mumps-Serum (Fa. "Flow Laboratories", Rockville, USA) mit PI-1(Sendai)- und PI-3(HA-1)-Antigenen, das Anti-PI-1-Serum mit PI-3(HA-1)-Antigen, das Anti-PI-2-Serum mit PI-3(HA-1)-Antigen, das Anti-PI-3(HA-1)-Serum mit PI-3(Rentschler)-Antigen sowie das Anti-PI-3(Rentschler)-Serum mit PI-3(HA-1)-Antigen.

Hundeseren

Von 400 zur Verfügung stehenden Hundeseren reagierten 51 (12,75 %) in der KBR und/oder im HAH-Test mit Paramyxovirusantigenen. Die Ergebnisse der positiven Seren sind in Tabelle 9 zusammengestellt.

Tabelle 9: Antikörpertiter von 51 Hundeseren, die in der
KBR und/oder HAH mit Paramyxovirusantigenen
reagierten

Lfd. Nr.	KBR				HAH						
	Mumps (En.)	PI-1 (S.)	PI-2 (G.)	PI-3 (HA)	Mumps (En.)	PI-1 (S.)	PI-2 (W.)	PI-2 (G.)	PI-2 (SV)	PI-3 (R.)	PI-3 (HA)
1	-	≥8 ⁺	-	-	-	-	-	-	-	-	/
2	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	/
3	-	-	32	32	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	16	16	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	16	8	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	8	8	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	5	-	-	-	/	/	-	-
8	-	-	-	-	40	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	20	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	20	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	20	-	/	/	-	/
12	-	-	-	-	-	20	-	/	-	-	/
13	-	-	-	-	-	20	-	/	-	-	/
14	-	-	-	-	-	20	-	/	-	-	/
15	-	-	-	-	-	20	-	-	-	-	/
16	-	-	-	-	-	≥20	-	-	-	-	/
17	-	-	-	-	-	160	-	-	-	/	/
18	/	/	/	/	-	-	20	/	-	-	/
19	/	/	/	/	-	-	20	/	/	-	/
20	-	-	-	-	-	-	-	40	-	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	/	-	20	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-	/	-	20
23	-	-	-	-	-	-	/	-	-	/	20
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40
26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≥40
28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20	20

(Forts. S. 27)

Tabelle 9: (1. Fortsetzung)

Lfd. Nr.	Mumps (En.)	PI-1 (S.)	PI-2 (G.)	PI-3 (HA)	Mumps (En.)	PI-1 (S.)	PI-2 (W.)	PI-2 (G.)	PI-2 (SV)	PI-3 (R.)	PI-3 (HA)
29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40	20
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40	20
31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40	40
32	-	-	-	-	20	160	-	-	-	/	-
33	-	-	-	-	20	-	40	/	-	-	-
34	-	-	-	-	≥20	-	-	/	20	-	/
35	-	-	-	-	-	-	-	≥20	-	-	20
36	-	-	-	-	-	-	-	40	-	-	≥40
37	-	-	-	-	-	-	-	≥40	-	-	80

38	-	5	-	-	-	20	-	/	-	-	/
39	-	5	-	-	-	≥20	-	-	-	/	-
40	-	10	-	-	-	≥40	-	/	/	-	-
41	-	20	-	-	-	40	-	-	-	-	-
42	-	20	-	-	-	40	-	/	-	-	-
43	-	-	-	16	-	-	-	-	/	40	160
44	-	5	-	-	20	-	-	-	/	-	-
45	-	5	-	-	40	-	-	-	-	/	-
46	-	-	-	5	20	-	-	-	-	-	-
47	-	5	-	-	20	20	-	/	-	-	-
48	-	5	-	-	20	40	-	-	-	-	-
49	-	5	-	-	-	20	20	-	-	-	-
50	-	-	10	20	-	-	-	20	-	-	80
51	-	-	-	5	≥20	-	-	/	-	-	20

En. Stamm Enders

S. Stamm Sendai

G. Stamm Greer

HA Stamm HA-1

W. Stamm Wagner

SV Stamm SV-5

R. Rentschler

+ reziroke Titerwerte

- negativ

/ nicht untersucht

Die Titer der in Tabelle 9 aufgeführten 51 Hundeseren schwankten zwischen 1:5 und 1:32 in der KBR sowie zwischen 1:20 und 1:160 im HAH-Test.

Nur in der KBR positive Reaktionen traten in 7 der 51 Seren (lfd. Nr. 1-7) auf:

2 Seren reagierten mit PI-1(Sendai)-Antigen (Nr. 1, 2),

4 Seren reagierten gleichzeitig mit PI-2(Greer)- und PI-3-(HA-1)-Antigen (Nr. 3-6),

1 Serum reagierte nur mit PI-3(HA-1)-Antigen (Nr. 7).

Nur im HAH-Test positiv reagierten 30 Seren (lfd. Nr. 8-37):

In 20 Fällen kam es zur Hemmung jeweils eines Antigens (einmal Mumps, Nr. 8; neunmal PI-1(Sendai), Nr. 9-17; zweimal PI-2(Wagner), Nr. 18, 19; einmal PI-2(Greer), Nr. 20; einmal PI-3(Rentschler), Nr. 21; sechsmal PI-3(HA-1), Nr. 22-27).

Bei 4 Seren konnten mit beiden verwendeten PI-3-Antigenen (Rentschler und HA-1) Titer von 1:20 bis 1:40 festgestellt werden (Nr. 28-31).

In den restlichen 6 Fällen (Nr. 32-37) kam es zu Reaktionen mit jeweils 2 Antigenen verschiedener Gruppen (einmal Mumps und PI-1(Sendai), Nr. 32; einmal Mumps und PI-2(Wagner), Nr. 33; einmal Mumps und PI-2(SV-5), Nr. 34; dreimal PI-2-(Greer) und PI-3(HA-1), Nr. 35-37).

In der KBR und HAH positive Reaktionen traten in 14 Fällen (lfd. Nr. 38-51) auf:

5 Seren (Nr. 38-42) reagierten mit PI-1(Sendai)-Antigen in der KBR und gleichzeitig mit homologem Antigen in der HAH, während Reaktionen mit anderen Antigenen ausblieben.

1 Serum (lfd. Nr. 43) reagierte mit PI-3(HA-1)-Antigen in beiden serologischen Tests und außerdem mit PI-3(Rentschler)-Antigen in der HAH; der HA-1-Titer im HAH-Test lag deutlich höher als der mit dem bovinen Antigen.

3 Seren (Nr. 44-46) wiesen HAH-Titer gegen Mumps-Antigen auf, reagierten aber in der KBR mit niedrigem Titer gegen PI-1-(Sendai)-Antigen (Nr. 44, 45) oder PI-3(HA-1)-Antigen (Nr. 46).

2 Seren (Nr. 47, 48) zeigten Komplementbindung mit PI-1(Sendai)-Antigen sowie Hämagglutinationshemmung mit Mumps-

und PI-1(Sendai)-Antigen.

1 Serum (Nr. 49) reagierte in der KBR und HAH mit PI-1-(Sendai)-Antigen und zusätzlich im HAH-Test mit PI-2(Wagner)-Antigen.

1 Serum (Nr. 50) wies HAH- und KBR-Titer gegen PI-3(HA-1)-Antigen auf, gleichzeitig aber auch niedrigere Titer gegen PI-2(Greer)-Antigen in beiden Reaktionen.

1 Serum (Nr. 51) reagierte mit PI-3(HA-1)-Antigen in beiden serologischen Tests und außerdem mit Mumpsantigen in der HAH.

Eine Korrelation zwischen der Höhe der Antikörpertiter und den klinischen Krankheitsbildern konnte nicht festgestellt werden. Lediglich bei dem Patienten Nr. 19 ergab sich aus dem Krankenbericht zwar die Diagnose "Laryngotracheitis", der Antikörpertiter gegen PI-2(Wagner)-Virus betrug aber nur 1:20.

In Tabelle 10 ist die zahlenmäßige Verteilung der 51 in der KBR und HAH positiv reagierenden Hundeseren dargestellt.

Tabelle 10: Zahlenmäßige Verteilung der 51 Hundeseren, die in der KBR und/oder HAH Antikörper gegen Paramyxoviren aufwiesen.

Antigen	KBR-Titer			HAH-Titer		
	1:5	1:10	≥1:20	1:20	1:40	≥1:80
Mumps (Enders)	0	0	0	8	2	0
PI-1 (Sendai)	8	2	2	12	4	2
PI-2 (Wagner)	nicht untersucht			3	1	0
(Greer)	1	3	1	2	3	0
(SV-5)	nicht untersucht			1	0	0
PI-3 (Rentschler)	nicht untersucht			2	4	0
(HA-1)	5	2	2	7	6	3

Wie aus den Tabellen 9 und 10 ersichtlich ist, reagierten mit Mumpsantigen lediglich 10 Seren in der HAH, während die KBR negativ verlief. Mit PI-1(Sendai)-Antigen reagierten in der HAH 18 Seren positiv, in der KBR 12 Seren. Nur 8 Seren zeigten gleichzeitig in beiden Reaktionen positive Titer, wobei die HAH-Titer 1 bis 3 Stufen höher lagen als die KBR-Titer. 10 Seren reagierten nur in der HAH, 4 Seren nur in der KBR. Mit PI-2(Wagner)-Antigen reagierten insgesamt 4 Seren in der HAH. Für die KBR wurde dieses Antigen nicht verwendet. Mit PI-2(Greer)-Antigen reagierten 5 Seren in der HAH und 5 Seren in der KBR. Lediglich eines dieser Seren zeigte gleichzeitig in beiden Reaktionen positive Titer. Jeweils 4 Seren reagierten entweder in der KBR oder in der HAH. Mit PI-2(SV-5)-Antigen reagierte nur ein Serum in der HAH. Mit dem bovinen PI-3(Rentschler)-Antigen reagierten in der HAH 6 Seren. 5 dieser 6 Seren wiesen gleichzeitig positive HAH-Titer mit PI-3(HA-1)-Antigen auf, wobei der HA-1-Titer in einem Falle um 2 Stufen höher lag. In der KBR wurde das PI-3(Rentschler)-Antigen nicht verwendet. Mit dem humanen PI-3(HA-1)-Antigen reagierten insgesamt 16 Seren in der HAH, 9 Seren in der KBR. Nur 3 Seren zeigten gleichzeitig in beiden Reaktionen positive Titer, wobei die HAH-Titer 2 bis 3 Stufen höher lagen als der KBR-Titer. 13 Seren reagierten ausschließlich in der HAH positiv, 6 Seren nur in der KBR.

Menschenserum

Um den serologischen Status bei Hunden zu dem bei Menschen in Beziehung bringen zu können, untersuchte ich 96 willkürlich ausgewählte Seren erwachsener Menschen. 77 (80,2 %) Seren wiesen Komplementbindung und/oder Hämagglutinationshemmung bei Verwendung von Paramyxovirusantigenen auf. In Tabelle 11 werden die Ergebnisse zusammengefaßt dargestellt.

Tabelle 10: Antikörpertiter von 77 Menschenseren, die in der KBR und/oder HAH mit Paramyxovirusantigenen reagierten

Lfd. Nr.	KBR				HAH			
	Mumps (En- ders)	PI-1 (Sen- dai)	PI-2 (Greer)	PI-3 (HA-1)	Mumps (En- ders)	PI-1 (Sen- dai)	PI-2 (Greer)	PI-3 (HA-1)
1	-	-	-	-	-	x	-	20*
2	-	-	-	-	-	-	-	40
3	-	-	-	-	-	-	-	80
4	-	-	-	-	-	-	-	80
5	-	-	-	-	-	-	-	80
6	-	-	-	-	-	x	-	80
7	-	-	-	-	-	x	-	80
8	-	-	-	-	-	-	-	≥80 ⁺
9	-	-	-	-	-	-	-	≥80 ⁺
10	-	-	-	-	-	-	-	≥80 ⁺
11	-	-	-	-	-	-	-	≥80 ⁺
12	-	-	-	-	-	-	-	≥80 ⁺
13	-	-	-	-	-	-	-	≥80 ⁺
14	-	-	-	-	-	-	-	≥80 ⁺
15	-	-	-	-	-	-	-	≥80 ⁺
16	-	-	-	-	-	-	-	≥80 ⁺
17	-	-	-	-	-	-	-	≥80 ⁺
18	-	-	-	-	-	-	-	≥80
19	-	-	-	-	-	-	-	≥80
20	-	-	-	-	-	-	-	≥80
21	-	-	-	-	-	-	-	≥80
22	-	-	-	-	-	-	-	≥80
23	-	-	-	-	-	-	-	≥80
24	-	-	-	-	-	-	-	≥80
25	-	-	-	-	-	-	-	≥80

(Forts. S. 33)

Tabelle 11: (1. Fortsetzung)

Lfd. Nr.	KBR				HAH			
	Mumps (En- ders)	PI-1 (Sen- dai)	PI-2 (Greer)	PI-3 (HA-1)	Mumps (En- ders)	PI-1 (Sen- dai)	PI-2 (Greer)	PI-3 (HA-1)
26	-	-	-	-	-	x	-	160
27	-	-	-	-	20	-	-	40
28	-	-	-	-	20	x	-	80
29	-	-	-	-	20	x	-	80
30	-	-	-	-	20	x	-	80
31	-	-	-	-	20	x	-	≥80
32	-	-	-	-	40	x	-	≥80
33	-	-	-	-	40	x	-	160
34	-	-	-	-	40	x	-	320
35	-	-	-	-	80	-	-	≥80 ⁺
36	-	-	-	-	80	x	-	320
37	-	-	-	-	-	20	-	≥80 ⁺
38	-	-	-	-	-	-	20	≥80 ⁺
39	-	-	-	-	-	-	20	≥80
40	-	-	-	-	-	-	20	≥80
41	-	-	-	-	20	20	-	≥80 ⁺
42	-	-	-	-	20	-	20	≥80 ⁺
43	-	-	-	-	20	-	20	≥80
44	-	-	-	5	-	x	-	80
45	-	-	-	5	-	x	-	320
46	-	-	-	20	-	x	-	80
47	-	5	-	5	-	20	-	≥80
48	-	80	-	5	-	160	-	≥80
49	-	80	-	10	-	320	-	≥80
50	5	40	-	5	40	20	-	≥80
51	-	80	5	20	-	160	20	160

(Forts. S. 34)

Tabelle 11: (2. Fortsetzung)

Lfd. Nr.	KBR				HAH			
	Mumps (En- ders)	PI-1 (Sen- dai)	PI-2 (Greer)	PI-3 (HA-1)	Mumps (En- ders)	PI-1 (Sen- dai)	PI-2 (Greer)	PI-3 (HA-1)
52	-	40	-	-	-	80	-	$\geq 80^+$
53	-	40	-	-	-	160	-	40
54	-	40	-	-	-	160	-	80
55	-	80	-	-	-	160	-	80
56	-	-	-	5	20	-	-	160
57	-	-	-	5	-	-	20	≥ 80
58	20	-	-	5	320	-	40	$\geq 80^+$
59	20	160	-	-	80	640	-	≥ 80
60	-	10	-	5	-	80	40	$\geq 80^+$
61	-	80	20	20	20	320	40	≥ 80
62	-	20	-	-	-	80	20	$\geq 80^+$
63	-	160	-	10	20	640	20	≥ 80
64	40	-	-	-	320	20	20	$\geq 80^+$
65	-	40	-	-	20	80	40	≥ 80
66	-	5	5	5	-	-	40	40
67	10	40	5	5	20	x	-	160
68	5	80	-	-	-	40	-	40
69	5	10	-	-	20	x	-	80
70	-	5	-	-	-	x	-	160
71	-	20	-	-	-	x	-	160
72	-	40	-	-	-	x	-	320
73	-	20	-	-	-	-	40	160
74	-	80	-	-	20	x	-	320
75	-	5	-	-	20	-	40	≥ 80
76	-	5	-	-	40	-	20	≥ 80
77	40	80	-	-	nicht untersucht			

* reziproke Titerwerte

+ Austitration in Tabelle 13

x nicht mit Flow-Antigen untersucht

Wie aus Tabelle 11 ersichtlich ist, reagierten 43 (lfd. Nr. 1-43) der 77 positiven Menschenserum ausschließlic in HAH-Test, und zwar 26 (Nr. 1-26) nur mit PI-3(HA-1)-Antigen und 10 (Nr. 27-36) zusätzlich mit Mumps-Antigen. Die Seren 37-40 zeigten neben PI-3-Titern gleichzeitig PI-1- (Nr. 37) bzw. PI-2-Titer (Nr. 38-40). Die Seren 41-43 reagierten außer mit PI-3- und Mumps-Antigen weiterhin mit PI-1- (Nr. 37) bzw. PI-2-Antigen (Nr. 38, 39).

Bei 8 Seren (lfd. Nr. 44-51) traten neben HA-hemmenden auch komplementbindende Antikörper gegen homologe Antigene auf (dreimal gegen PI-3, Nr. 44-46; dreimal gegen PI-3 und PI-1, Nr. 47-49; je einmal gegen Mumps, PI-1 und PI-3 bzw. gegen alle drei PI-Antigene, Nr. 50, 51).

In 16 Seren (lfd. Nr. 52-67) wurden homologe Reaktionen in beiden serologischen Tests sowie zusätzlich HAH-Titer (Nr. 52-65) oder KBR-Titer (Nr. 66, 67) gegen ein oder mehrere andere Antigene beobachtet.

2 Seren (lfd. Nr. 68, 69) zeigten in der KBR und HAH homologe Reaktionen mit PI-1-Antigen (Nr. 68) bzw. mit Mumpsantigen (Nr. 69). Serum 68 reagierte darüberhinaus mit Mumpsantigen in der KBR und mit PI-3-Antigen im HAH-Test, Serum 69 zusätzlich mit PI-1-Antigen in der KBR und mit PI-3-Antigen in der HAH.

7 Seren (lfd. Nr. 70-76) reagierten in der HAH mit PI-3-Antigen und in der KBR mit PI-1-Antigen, wobei jedoch 4 dieser Seren mit dem PI-1-Antigen in der HAH nicht untersucht wurden. Außerdem traten im HAH-Test positive Reaktionen mit Mumps-Antigen (Nr. 74-76) oder mit PI-2-Antigen (Nr. 73, 75, 76) auf.

1 Serum (lfd. Nr. 77) reagierte in der KBR mit Mumps- und PI-1-Antigen; in der HAH wurde es jedoch nicht untersucht.

In Tabelle 12 ist die zahlenmäßige Aufgliederung der 77 in der KBR und/oder HAH reagierenden Menschenserum dargestellt.

Tabelle 12: Zahlenmäßige Verteilung der 77 Menschenseren, die in der KBR und/oder HAH mit Paramyxovirus-antigenen reagierten

Antigen	KBR-Titer			HAH-Titer		
	1:5	1:10	≥1:20	1:20	1:40	≥1:80
Mumps (Enders)	3	1	4	16	5	5
PI-1 (Sendai)	5	2	20	5	1	13
PI-2 (Greer)	3	0	1	11	7	0
PI-3 (HA-1)	11	2	3	1	5	70

Wie aus den Tabellen 11 und 12 ersichtlich ist, reagierten mit Mumps-Antigen in der HAH insgesamt 26 und in der KBR 8 Seren. 6 Seren zeigten in beiden Untersuchungsmethoden positive Titer, wobei die HAH-Titer immer um 1 bis 4 Stufen höher lagen. 20 Seren reagierten nur in der HAH, 2 Seren nur in der KBR; eins der beiden in der KBR positiv reagierenden Seren wurde jedoch nicht in der HAH untersucht.

Mit PI-1-Antigen reagierten 19 Seren in der HAH und 27 in der KBR. 16 dieser Seren zeigten in beiden Reaktionen positive Titer, wobei die HAH-Titer in 14 Fällen 1 bis 3 Stufen höher lagen, in 2 Fällen dagegen der KBR-Titer um eine Stufe höher war. 2 Seren reagierten nur in der HAH, 11 Seren nur in der KBR. Von diesen 11 Proben waren allerdings 7 in der HAH nicht mit dem entsprechenden Antigen untersucht worden.

Mit PI-2-Antigen reagierten 18 Seren in der HAH und 4 in der KBR. Lediglich 3 Seren zeigten gleichzeitig in beiden Reaktionen positive Titer, wobei die HAH-Titer um 1 bis 3 Stufen höher lagen. 15 Seren reagierten nur in der HAH, 1 Serum nur

in der KBR.

Mit PI-3-Antigen reagierten 76 Seren in der HAH und 16 in der KBR. Alle 16 in der KBR positiven Seren waren auch im HAH-Test positiv; die HAH-Titer lagen immer deutlich über den KBR-Titern. 60 Seren reagierten nur in der HAH positiv.

20 Menschenserum (in Tabelle 11 mit + gekennzeichnet) wurden in der HAH-Reaktion gegen humanes (HA-1) und bovines (Rentschler) PI-3-Antigen ausgetitert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 13 zusammengestellt, wobei die Nummerierung der Seren in Tabelle 11 beibehalten wurde.

Tabelle 13: HAH-Titer von 20 Menschenserum gegen
2 verschiedene PI-3-Antigen

Serum Nr.	PI-3-Antigen		Serum Nr.	PI-3-Antigen	
	HA-1	Rentschler		HA-1	Rentschler
10	320 ⁺	320	38	320	160
15	80	80	37	320	160
52	80	160	13	320	160
			58	320	80
			8	320	80
64	1080	160	62	160	80
12	1080	80	14	160	20
17	1080	80	11	160	-
60	640	320	35	80	40
42	640	320	16	80	20
41	640	160	9	80	-

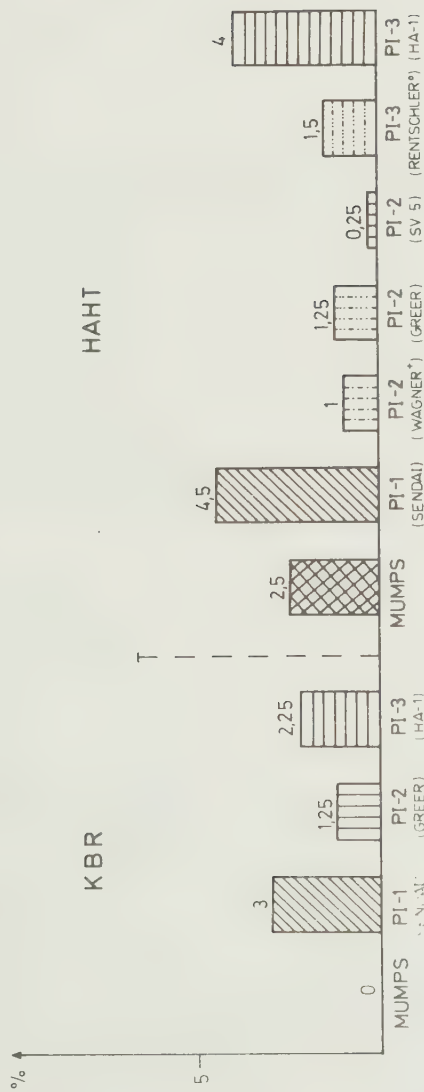
+ reziproke Titerwerte

Bei 18 der 20 in Tabelle 13 aufgeführten Seren waren in der HAH auch gegen das bovine PI-3(Rentschler)-Antigen positive Reaktionen festzustellen. Während der Titer gegen PI-3(HA-1)-Antigen von 1:80 bis 1:1080 reicht, schwankt der Titer gegen PI-3(Rentschler)-Antigen zwischen 1:80 und 1:320. In 2 Seren traten gleich hohe Titer gegenüber beiden PI-3-Antigenen auf, bei 1 Serum lag der HAH-Titer mit PI-3(Rentschler)-Antigen um 1 Stufe höher als mit PI-3(HA-1)-Antigen. In den restlichen Seren lag der HA-1-Titer um 1 bis 4 Stufen über dem PI-3(Rentschler)-Titer.

Eine Auswertung von Krankenberichten bei den Serumspendern war wegen fehlender Unterlagen nicht möglich.

Die Ergebnisse der Tabellen 9 und 11 sind zur besseren Veranschaulichung auf den Abbildungen 1 und 2 in prozentualer Aufschlüsselung vergleichend dargestellt.

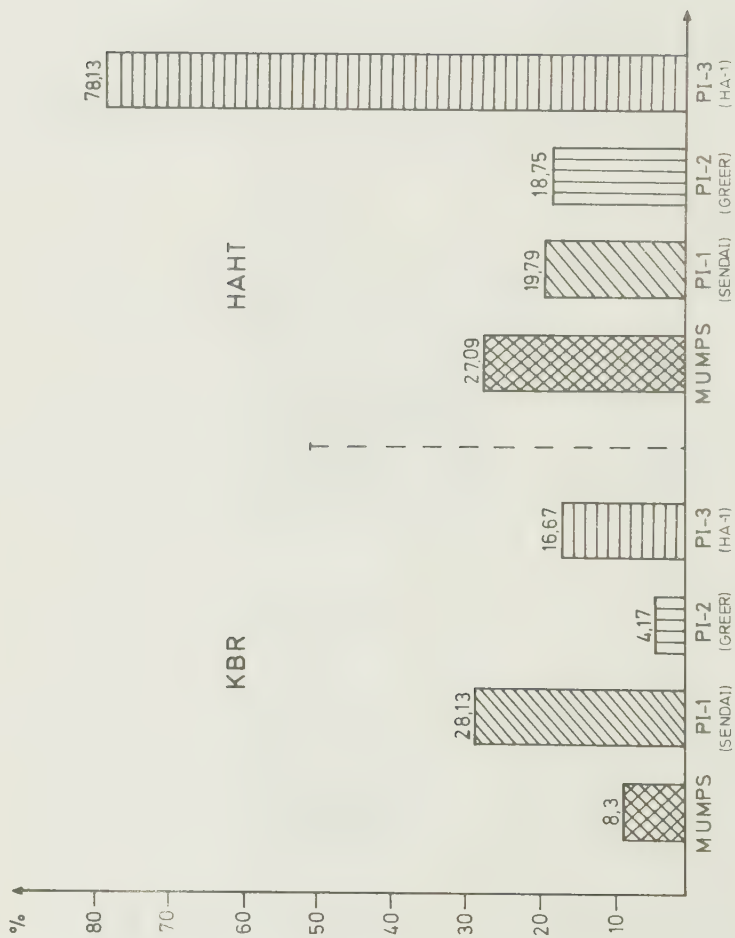
Abb. I: Prozentualer Anteil der in der KBR und/oder HAH mit Paramyxovirus-
antigenen reagierenden Hundeseren



(+) aviärer PI-2-Stamm

(O) boviner PI-3-Stamm

Abb. 2: Prozentualer Anteil der in der KBR und/oder HAH mit Paramyxovirus-antigenen reagierenden Menschenseren



3.2.3. Besprechung der Ergebnisse

Die serologische Diagnose von Paramyxovirusinfektionen stößt infolge der antigenen Beziehungen innerhalb dieser Virusgruppe auf Schwierigkeiten. Gleichzeitige, jedoch unregelmäßig auftretende heterotypische Immunantworten nach einer Infektion mit einem bestimmten Virustyp, wie man sie beim Menschen häufig beobachtet, deuten auf diese relativ engen Antigenverwandtschaften hin. Beispielsweise kann es nach einer Mumpsinfektion nicht nur zu einem homologen Titeranstieg kommen, sondern darüberhinaus auch zu Titeranstiegen gegen andere Paramyxovirustypen. Die Diagnose der Krankheit ist daher - zumindest beim Menschen - niemals allein serologisch, sondern immer erst durch den Erregernachweis oder anhand eines typischen Bildes ("Mumps") zu stellen (CHANOCK u. JOHNSON, 1964).

Die vorliegenden serologischen Befunde an stichprobenartig ausgewählten Einzelseren sind aus diesen Gründen nur begrenzt interpretierbar. Festgestellt kann aber werden, daß bei den untersuchten Hunden offenbar Infektionen mit verschiedenen Parainfluenzaviren vorgekommen sind und daß auch Hunde als Träger und Ausscheider solcher Erreger deshalb wohl grundsätzlich in Frage kommen. Ob es sich bei diesen Erregern um Viren handelt, die identisch mit den in den serologischen Tests verwendeten Virustypen sind, ist allerdings ungewiß. Zumindest aber dürfte es sich um Reaktionen mit nahe verwandten Virustypen handeln. Es ist nicht ungewöhnlich, daß mit bestimmten PI-Viren infizierte Individuen auch mit entsprechenden Erregern anderer Spezies serologisch kreuzreagieren (CHANOCK u. JOHNSON, 1964). Das zeigen auch die Befunde an 20 Menschenseren, die sowohl mit dem humanen PI-3(HA-1)-Antigen als auch mit dem bovinen PI-3(Rentschler)-Antigen spezifisch reagierten.

Um in den Untersuchungen unspezifische Reaktionen - vor allem im HAH-Test - auszuschließen, wurden die geprüften Seren zur

Eliminierung von Inhibitoren einer Trypsin- und Perjodatbehandlung unterzogen und anschließend zur Entfernung von Isoagglutininen mit Testerythrozyten adsorbiert. Zur weiteren Absicherung gegen unspezifische Reaktionen wurden erst HAH-Serumtiter von 1:20 oder höher als positiv beurteilt. KBR-Titer inaktivierter Seren ab einer Verdünnung von 1:5 bis 1:10 dürften - in Anlehnung an die einschlägige Literatur (CHANOCK u. JOHNSON, 1964) - bereits spezifische Antikörperreaktionen sein. Es kann demnach mit Sicherheit angenommen werden, daß in den untersuchten Serumproben, die sowohl in der KBR als auch im HAH-Test (mit deutlich höherem Titer) positiv reagierten, spezifische Antikörper nachgewiesen wurden. Das gleiche ist von Fällen anzunehmen, die in der KBR zwar negativ waren, in der HAH aber deutlich reagierten. Hier kann es sich entweder um nach Verschwinden von komplementbindenden Antikörpern länger persistierende HAH-Antikörpertiter handeln, oder es lag möglicherweise eine Infektionsphase vor, in der sich erst hämagglutinationshemmende, aber noch keine komplementbindende Antikörper ausgebildet hatten (SANDOW et al., 1969).

Insgesamt 7 getestete Hundeseren reagierten gegen PI-Antigene ausschließlich in der KBR positiv. Diese Fälle sind schwer zu deuten. In 3 Seren waren nur Antikörper gegen jeweils ein PI-Antigen vorhanden, 4 Hunde zeigten positive KBR sowohl gegen PI-2- als auch PI-3-Antigen bei negativer HAH. Möglicherweise kommt ein kreuzreagierendes Parainfluenza-Antigen vor, das nicht an das Hämagglutinin gebunden ist. Ähnliche Reaktionen zeigten sich mit Mumps-, PI-1- und PI-2-Antigen bei einigen Menschenseren. Auch SANDOW et al. (1969) fanden bei Menschen positive KBR-Titer gegen Sendai-Antigen, während die HAH negativ ausfiel.

Aus den Befunden geht weiterhin hervor, daß lediglich bei einem kleinen Prozentsatz (12,75 %) der Hunde Antikörpertiter gegen die benutzten Antigene vorhanden waren. Während in der Literatur (s. Tab. 3) HAH-Titer gegen Mumps bis zu

100 % und komplementbindende Antikörper von 0 bis 18 % angegeben werden, ließen sich in den eigenen Untersuchungen nur im HAH-Test Mumpsantikörper nachweisen, und zwar bei 2,5 % der Fälle. Verschiedene Autoren ermittelten in Hundeseren HAH-Antikörper gegen PI-1(Sendai)-Antigen bis zu 3,7 %, gegen PI-2(Greer bzw. SV-5)-Antigen um 2,7 bzw. 1,27 % und gegen PI-3(HA-1)-Antigen bis zu 7,3 % (s. Tab. 4-6). Nach eigenen Feststellungen traten HAH-Antikörper gegen PI-1(Sendai)-Antigen in 4,5 %, gegen PI-2(Greer bzw. SV-5)-Antigen in 1,25 bzw. 0,25 % der Seren auf. Gegen PI-3(HA-1)-Antigen reagierten 4,0 %, gegen PI-3(Rentschler)-Antigen 1,5 % der Seren positiv (s. Abb. 1). PI-1(Sendai)-positive Seren waren, entgegen den Angaben in der Literatur, relativ am häufigsten.

Eine ähnliche Diskrepanz zu den Befunden anderer Autoren trat bei den untersuchten Menschenseren auf. Während danach in der menschlichen Bevölkerung eine Durchseuchung mit PI-3-Viren von 80 bis 100 %, mit PI-1- und PI-2-Viren von mindestens 50 % und mit dem Mumpsvirus von 60 bis 70 % gefunden wurde (SCHMIDT et al., 1964; FARROTT et al., 1962), ließen sich in den eigenen Untersuchungen Antikörper gegen PI-3-(HA-1)-Antigen bei 78,13 %, gegen PI-2(Greer)-Antigen bei 18,75 %, gegen PI-1(Sendai)-Antigen bei 28,13 % und gegen Mumpsantigen bei 27,1 % nachweisen (s. Abb. 2).

Aus den geschilderten Verhältnissen kann man folgern, daß für die epidemiologischen Zusammenhänge zwischen Paramyxovirusinfektionen von Mensch und Tier die Bedeutung der Hunde trotz des relativ engen Kontaktes mit dem Menschen gering zu sein scheint. Die mit der Literatur differierenden Ergebnisse können damit erklärt werden, daß der Durchseuchungsgrad geographische und jahreszeitliche Abhängigkeiten aufweist und daß die einzelnen Laboratorien die geprüften Seren nicht oder unterschiedlich vorbehandelten sowie bei den serologischen Untersuchungen keine einheitlichen Antigene verwendeten (SANDOW et al., 1967).

4. Enterovirusinfektionen bei Hunden

4.1. Schrifttum

Meines Wissens konnten bisher keine spezifischen Hunde-enteroviren angezüchtet werden. Es gelang lediglich, humane Enterovirusstämme (Polio-, Echo- und Coxsackieviren) aus Hunden zu isolieren (s. Tab. 1). Nach BONIN (1969) können Echovirusinfektionen beim Menschen teilweise zu aseptischen Meningitiden, Diarrhoen oder respiratorischen Erkrankungen führen, Coxsackievirusinfektionen teilweise zu poliomyelitis-ähnlichen Erkrankungen, aseptischen Meningitiden oder grippe-ähnlichen Erscheinungen (Coxsackie B₂-Sommergrippe).

Die Isolierungen humaner Enterovirusstämme aus Hunden korrelierten bislang niemals mit klinischen Symptomen. GREW et al. (1970) isolierten aus Hundekot Poliovirus Typ 1 und wiesen gleichzeitig Antikörper nach. Dieser Befund deutet darauf hin, daß Hunde möglicherweise latent oder inapparent Poliomyelitisinfektionen durchmachen, wobei das Virus über den Darm ausgeschieden wird.

Aus der Gruppe der Echoviren konnten bei Hunden bisher der Serotyp 6 aus dem Nasopharynx und aus Kot isoliert werden (PINDAK u. CLAPPER, 1964; LUNDGREN et al., 1968; CLAPPER, 1970). Diese Tiere zeigten jedoch keine Antikörpertiter gegen das entsprechende Virus. KISELEVA u. BERDYLIIEV (1971) konnten neuerdings auch die Serotypen 2 und 19 in Kot von Hunden nachweisen. GELFAND (1961) beobachtete bei Hunden vereinzelt Antikörperreaktionen gegen die Echovirustypen 6, 7, 8, 9 und 12, ohne daß ein direkter Virusnachweis versucht wurde.

Aus dem Nasopharynx und dem Kot von Hunden konnten außerdem die Coxsackievirustypen B₁, B₃ und B₅ isoliert werden (LUNDGREN et al., 1968; CLAPPER, 1970). KISELEVA u. BERDYLIIEV (1971) fanden unter 6 aus Kotproben isolierten Enterovirusstämmen in einem Fall Coxsackievirus A₆. Gegen die Typen B₃ und B₅ waren Antikörpertiter feststellbar (LUNDGREN et al., 1968). Antikörpertiter fand man auch gegen die Coxsackietypen A₉, A₂₀ und B₂ (GELFAND, 1961).

4.2. Eigene Untersuchungen

4.2.1. Material und Methode

Antikörper gegen Enteroviren in Hundeseren wurden mit Hilfe des Serumneutralisationstests nachgewiesen.

Virusstämme

Echovirus Typ 6 und 9, vermehrt in Affennierenzellkulturen (African Green Monkey). Die Stämme wurden dankenswerterweise vom Institut für Virologie der Universität Gießen zur Verfügung gestellt.

Hundeseren

Untersucht wurden 73 Hundeseren; sie wurden willkürlich unter 400 Seren ausgewählt, die zuvor auf Antikörper gegen Paramyxoviren getestet worden waren (s. S. 18).

Die Seren wurden 30 Minuten bei 56°C inaktiviert und bis zu ihrer Verwendung bei -30°C gelagert.

Zellkulturen

a. Lösungen

Zellanzuchtmedium (AM):

TC-Minimal Medium Eagle (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA) mit Zusatz von 10 % inaktiviertem Kälberserum.

Erhaltungsmedium (EM):

Das EM hat die gleiche Zusammensetzung wie das AM, es wird jedoch nur 2 % Kälberserum zugesetzt.

Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS):

PBS wurde in der von DULBECCO u. VOGT (1957) empfohlenen Rezeptur verwendet.

Versen-Trypsin-Lösung (VT):

Das von uns gebrauchte VT bestand aus 0,25 %iger Trypsinlösung in Phosphatpuffer, die 1:5 mit 0,02 %igem Versen-Phosphatpuffer verdünnt wurde; der Phosphatpuffer enthielt keine Kalzium- und Magnesiumionen.

b. Anzüchtungstechnik

Für die Virustitrationen und Neutralisationstests wurden primäre und sekundäre Zellkulturen von Affennieren (African Green Monkey) verwendet.

Die Zellaufschwemmungen, bezogen von der Fa. "Flow Laboratories", Rockville, USA, wurden in AM auf eine Dichte von etwa $3-5 \times 10^5$ Zellen/ml verdünnt und in Kulturröhrchen à 1,0 ml ausgesät. Nach einer Bebrütungszeit von 3 bis 5 Tagen bei 37°C waren die primären Zellkulturen dicht gewachsen.

Ein anderer Teil der Zellsuspension wurde zunächst in Rouxflaschen à 80 ml ausgesät. Nachdem sich auch in diesen Gefäßen ein geschlossener Zellrasen gebildet hatte, wurde das AM abgesaugt, die Zellen mit PBS gewaschen, mit VT-Lösung aus dem Verband gelöst, erneut in AM suspendiert und zur Herstellung von Sekundärkulturen in Röhrchen weitergezüchtet. - Aus dem Zellmaterial einer Rouxflasche konnten 160 weitere Röhrchenkulturen gewonnen werden.

Virustitration

Die Echoviren Typ 6 und 9 wurden in Röhrchenkulturen titriert. Dazu wurde zunächst das AM aus den Röhrchen abgesaugt und durch 1,0 ml EM ersetzt. Anschließend stellte man Virusverdünnungen in Zehnerpotenzen zwischen 10^{-2} und 10^{-8} her, verimpfte jeweils 0,1 ml von jeder Verdünnungsstufe auf 4 Röhrchen, inkubierte bei 37°C und durchmusterte die Kulturen täglich auf zytopathische Veränderungen.

Die Titerendpunkte wurden in $\text{TCID}_{50}/0,1 \text{ ml}$ angegeben und nach der Methode von REED u. MUENCH (1938) errechnet.

Neutralisationstest

Zunächst wurden das AM der Röhrchenkulturen durch EM ersetzt und darauf die Hundeseren von 1:4 bis 1:64 in Zweierpotenzen verdünnt. Gleiche Volumina von 0,5 ml der Serumverdünnungen wurden mit gleichen Volumina einer konstanten Virusverdünnung

von Echo 6 bzw. Echo 9 versetzt (ca. 100 TCID₅₀/0,1 ml) und eine Stunde bei 37°C im Wasserbad gehalten.

Je 4 Zellkulturröhrchen wurden dann mit jeweils 0,2 ml der Serum-Virusgemische beimpft und bei 37°C bebrütet. Parallel dazu wurde zur Überprüfung der Virusdosis bei jedem Ansatz eine Virustitration in der oben angegebenen Weise mitgeführt.

Die Röhrchen wurden über 6 Tage regelmäßig auf zytopathische Veränderungen bzw. Neutralisation durchgemustert.

4.2.2. Ergebnisse der Untersuchungen

Bei den Virustitrationsen ergaben sich für die beiden verwendeten Stämme Echo 6 und Echo 9 Titer von 10^{-5,0} bzw. 10^{-6,0} TCID₅₀/0,1 ml. Um eine Virusdosis von etwa 100 TCID₅₀/0,1 ml für den Neutralisationstest zu erreichen, konnten daher die Virusstämme entsprechend verdünnt werden.

Insgesamt konnte in 7 (9,7 %) der 73 untersuchten Hundeseren Neutralisation des Echovirus 6 festgestellt werden. 4 Seren wiesen einen Titer von 1:8, 2 Seren einen Titer von 1:16 und 1 Serum einen Titer von 1:32 auf. Gegen Echovirus 9 fanden sich in keinem Fall positive Reaktionen. Die positiven Befunde sind in Tabelle 14 zusammengestellt. Als positiv wurden Neutralisationen ab einer Verdünnung von 1:8 bewertet.

Keins der gegen Enteroviren positiv reagierenden Hundeseren wies Antikörpertiter gegen Paramyxoviren auf.

Tabelle 14: Serologische Befunde an 7 Hundeseren, die
Neutralisation von Echovirus 6 zeigten

Protokoll Nr.	Echovirus 6	Echovirus 9
389	32 ⁺	-
104	16	-
119	16	-
369	8	-
387	8	-
392	8	-
393	8	-

+ reziproke Titerwerte

4.2.3. Besprechung der Ergebnisse

Enterovirusinfektionen beim Menschen verlaufen größtenteils inapparent; werden sie aber klinisch manifest, entwickeln sich unterschiedlichste Krankheitsbilder. Die Beteiligung der Echoviren Typ 6 bzw. 9 an diesen Infektionen variiert innerhalb bestimmter Populationen; hinzukommt, daß während einer begrenzten Zeitspanne meist ein Virustyp vorherrscht, der dann nach ausreichender Immunisierung der Bevölkerung von einem anderen Virus abgelöst wird (BONIN, 1969).

Daß zumindest Echo-6 auch Hunde infizieren kann, beweisen Isolierungsversuche; Echo-9 dagegen konnte bisher nicht aus Hunden isoliert werden (PINDAK et al., 1964). Ob allerdings dem Hund eine epidemiologische Bedeutung für menschliche Infektionen zukommt, ist ungewiß, doch dürfte sie nur geringgradig sein. Erkrankungen der Hunde nach

natürlicher Infektion durch Echo-6 (oder andere Echovirus-typen) wurden bislang nicht beobachtet; bei experimentell mit Echo-6 infizierten Beagles traten Darmaffektionen auf (PINDAK et al., 1966). Nach eigenen Untersuchungen konnten keine Antigen-Antikörper-Beziehungen zur klinischen Erkrankung festgestellt werden.

Die Untersuchungen von 73 Hundeseren ergaben in 7 Fällen neutralisierende Antikörper gegen Echovirus 6, und zwar höchstens bis zu einer Verdünnung von 1:32 (s. Tab. 14), was mit mehreren Angaben in der Literatur korreliert. Andererseits erwähnen LUNDGREN et al. (1968), daß bei Hunden trotz Isolierung von Echo-6 aus Nasopharynx und Kot der serologische Virusnachweis negativ ausfiel. Es ist daher wahrscheinlich, daß humane Enteroviren den Digestionstrakt von Hunden passieren können, ohne daß es zu Infektionen oder Immunreaktionen bei den betreffenden Tieren kommt. - Echovirus 9 wurde von keinem der 73 untersuchten Hundeseren neutralisiert. Diese Beobachtung erscheint insofern bemerkenswert, als es sich hierbei um einen Virustyp handelt, der beim Menschen mindestens ebenso häufig vorkommt, wie Echovirus 6.

In welchem Umfang der Hund als Träger und Ausscheider von humanen Enteroviren tatsächlich in Betracht zu ziehen ist, kann nur durch gezielte Virusisolierungsversuche geklärt werden.

5. Infektionen mit Herpesvirus canis

5.1. Schrifttum

5.1.1. Vorkommen und Verbreitung

Die durch Herpesvirus canis verursachte, offenbar nur bei Hunden auftretende Infektion wurde erstmals durch CARMICHAEL et al. (1965; 1966) in den USA, wenig später durch CORNWELL et al. (1966) und PRYDIE et al. (1966) in England, durch MOTOHASHI et al. (1966) in Japan sowie durch RATULD u. WERNER (1967) in Frankreich beschrieben. Die zitierten Autoren konnten aus unterschiedlichem Untersuchungsmaterial Herpesviren in Zellkulturen isolieren.

Berichte von HUXTABLE et al. (1970) aus Australien und von VAN DER LINDE-SIPMAN (1971) aus den Niederlanden beschrieben ein Krankheitsbild bei Hunden, das ätiologisch einer Herpesvirusinfektion zuzuordnen wäre; eine Erregerisolierung gelang jedoch nicht.

Infektionen mit Herpesvirus canis scheinen also weltweit verbreitet zu sein.

5.1.2. Eigenschaften des Erregers

Der Erreger wird auf Grund der beobachteten Zytopathologie, seiner Morphologie, seines Replikationsmechanismus sowie seiner biochemischen und biophysikalischen Eigenschaften zu den Herpesviren gerechnet.

Zytopathologie und Morphologie: In Hundenierenzellkulturen, die mit dem Stamm F-205-V (CARMICHAEL et al., 1965) infiziert wurden, traten zytopathische Veränderungen auf, die den Veränderungen von Herpes simplex-Virus in HeLa-Zellkulturen entsprachen. Es konnten dabei schwach azidophile intranukleäre Einschlusskörperchen nachgewiesen werden, die jedoch nicht ganz die typischen Merkmale von Cowdry A-Inklusionen zeigten.

Elektronenmikroskopisch fand man in Dünnschnitten der infizierten Kulturzellen Viruspartikel, die aus einem Kor (Durchmesser 35-55 μ m), einer inneren Membran (Durchmesser 65-85 μ m) und einer äußeren Hülle (Durchmesser 115-175 μ m) zusammengesetzt waren. Die Nukleokapside negativ kontrastierter Partikel zeigten eine ikosaedrale Struktur (CARMICHAEL et al., 1965 b). Die Kapside bestanden aus insgesamt 162 Kapsomeren, die relativ lang waren und hohl erschienen (STRANDBERG et al., 1965).

Weitere elektronenmikroskopische Befunde von CARMICHAEL et al. (1965 b) und STRANDBERG et al. (1965) ergaben, daß die untersuchten Virusteilchen typische Eigenschaften von Herpesviren besaßen. Partikel mit äußerer Hülle wurden nur extrazellulär oder in intraplasmatischen Vakuolen angetroffen. Kapside, die lediglich von einer inneren Membran umschlossen waren, fanden sich sowohl im Zellkern, als auch im Zytoplasma.

Nukleinsäure: Herpesvirus canis enthält DNS, die durch einen hohen Guanin-Cytosin-Gehalt (65-67 Mol%) charakterisiert ist; ihre Dichte, in der CsCl-Gleichgewichtssedimentation ermittelt, beträgt 1,723 bis 1,725 g/cm^3 (AURELIAN, 1969). Jod-5-desoxy-2-uridin (JUDR) hemmt die CHV-Replikation (MOTOHASHI u. TAJIMA, 1966).

Empfindlichkeit gegenüber lipidlöslichen Substanzen: Nach Zusatz von Diäthyläther bei $+4^\circ\text{C}$ verschwindet die CHV-Infektiosität vollständig; im Gegensatz zum H.c.c.- und Staupevirus wird Herpesvirus canis durch Chloroform bei $+4^\circ\text{C}$ ebenfalls inaktiviert (CARMICHAEL et al., 1965 b).

Hitzeempfindlichkeit: In Medium suspendiertes Virus wird bei einer Temperatur von 56°C schnell inaktiviert; schon nach einer Einwirkungsdauer von 4 Minuten ist der infektiöse Titer um mehr als 99 % gesunken. Eine Temperatur von 36°C inaktiviert die Virussuspension innerhalb von 5 Stunden zu 50 % und innerhalb von 16 Stunden vollständig.

Bei Kühlschranktemperatur (4°C) bleibt das Virus etwa 24 Stunden und bei einer Aufbewahrungstemperatur von -20°C

etwa 5 Tage stabil. Im letzten Fall nimmt jedoch die Infektiosität allmählich ab, so daß nach 28 Tagen ein Infektiositätsverlust von mehr als 90 % festgestellt wird (CARMICHAEL et al., 1965 b).

Hämagglutination: Bei pH 6,5 oder 7,4 sowie bei Temperaturen von 4°C und 22°C findet man keine Agglutination der Erythrozyten von Meerschweinchen, Maus, Huhn, Schaf, Rind, Pferd, Hund und Mensch (CARMICHAEL et al., 1965 b). Agglutination von Hundeerythrozyten tritt dagegen bei pH-Werten unter 6,0 auf (SPERTZEL et al., 1965).

Stabilität gegenüber niedrigen pH-Werten: Bei pH 6,5 bis 7,6 beobachtet man kein Absinken des Titers, bei pH 5,5 einen 90 %igen und bei pH 4,8 einen mehr als 99 %igen Infektiositätsverlust (CARMICHAEL et al., 1965 b). Nach Versuchen von SPERTZEL et al. (1965) dagegen ergibt sich bei pH-Werten von 5,5, 6,0, 6,5 und 7,0 nur eine geringgradige Verminderung des infektiösen Titers, bei pH 5,0 fällt er um das 20fache und bei pH 4,0 liegt völlige Inaktivität vor.

5.1.3. Virusanzüchtung

Herpesvirus canis vermehrt sich offenbar nur in Gewebekulturen vom Hund (SPERTZEL et al., 1965). Wenn auch eine kurzfristige Adaptation des Virus an Affennierenkulturen gelang (FRYDIE et al., 1966), zeigen CHV-beimpfte Kulturen fetaler Nierenzellen von Mensch, Rind und Schwein sowie die Chorioallantoismembran 8 bis 11 Tage alter Hühnereier keinen zytopathischen Effekt (STEWART et al., 1965; PRYDIE et al., 1966). Für die Virusanzüchtung erweisen sich primäre Hundenierenzellkulturen (DKCC), Lungen- und Peritonealmakrophagenkulturen von 2 Tage und 10 Wochen alten Welpen (CARMICHAEL et al., 1969), canine Schilddrüsenkarzinomzellen (JOHNSON et al., 1969) sowie Kulturen aus fetalen Hundelungenfibroblasten (RATULD u. WERNER, 1967) als geeignet. Bebrütungstemperaturen von 35°C bis 37°C ergeben einen optimalen CHV-Titer in diesen Gewebekulturen

(AURELIAN, 1969; CARMICHAEL et al., 1969). Bei 38°C beträgt das Wachstum etwa 10 %, bei 39,5°C weniger als 0,1 % der maximalen Vermehrungsrate (CARMICHAEL et al., 1969). AURELIAN (1969) erzielte die besten Ergebnisse bei einer Inkubationstemperatur von 37°C; Kulturen, die bei 34°C bebrütet wurden, ergaben lediglich 1/7 und solche, bei 39°C inkubiert, 1/50 des optimalen Titters.

CHV bedingt in Gewebekulturen einen sehr deutlichen herdförmigen zytopathischen Effekt, der sich von dem anderer bekannter caniner Viren unterscheidet (CORNWELL et al., 1969). Stark lichtbrechende, später sich abrundende und geschwollene Zellen lösen sich aus dem Verband und lassen zellfreie, von degenerierten Zellen eingefasste Bezirke zurück (CARMICHAEL et al., 1964; 1965). Die Herde treten innerhalb von 12 bis 18 Stunden p.i. (CARMICHAEL et al., 1965 b), von 24 Stunden p.i. (CORNWELL et al., 1969) oder von 48 Stunden p.i. (WRIGHT et al., 1970) auf und verteilen sich bis zum 3. Tag p.i. über den gesamten Zellrasen (CORNWELL et al., 1969; PRYDIE et al., 1966). Während CARMICHAEL et al. (1965) und PRYDIE et al. (1966) häufig intranukleäre Einschlusskörperchen verschiedenen Aussehens und variierender Größe beobachteten, konnten RATULD et al. (1967) keine und CORNWELL et al. (1969) nur selten KEK feststellen.

Werden Nieren erkrankter Welpen für Gewebekulturen verwendet, wachsen die Zellen anfangs normal, nach 4 Tagen beginnen sie sich abzurunden und innerhalb von 48 Stunden bildet sich dann deutliche Zelldegeneration aus (STEWART et al., 1965). In Kulturen latent CHV-infizierter Hunde stellt sich der zytopathische Effekt oft erst 8 Tage nach der Präparation ein (SPERTZEL et al., 1965).

5.1.4. Serologischer Nachweis

Neutralisierende Antikörper gegen Herpesvirus canis können im Serumneutralisationstest (SPERTZEL et al., 1965) bzw. im Plaque-Reduktionstest (AURELIAN, 1968) nachgewiesen werden; außerdem lassen sich auch komplementbindende CHV-Antikörper feststellen (HUXSOLL et al., 1970).

Mit Hilfe des Röhrchentests ermittelten RATULD et al. (1967) im Rahmen epidemiologischer Untersuchungen bei 2 von 47 Hunden Antikörper, die in einer Verdünnung von 1:64 CHV neutralisierten. Das Serum eines experimentell infizierten Hundes neutralisierte in einer Lungenfibroblastenkultur 200 TCID₅₀ des viralen Agens in einer Verdünnung von ebenfalls 1:64 (RATULD u. WERNER, 1965). Nach LUNDGREN et al. (1969) reagierten 4 natürlich infizierte Beagles gegen CHV mit einem Titer von 1:4 bis 1:10, von 282 untersuchten Hunden zeigten 36 (12,8 %) Titer zwischen 1:5 und 1:320. STEWART et al. (1965) fanden bei 3 ausgewachsenen Hunden unter Verwendung von 1000 TCID₅₀ Titer von 1:4 bis 1:64.

Daß der Plaque-Reduktionstest bezüglich Empfindlichkeit und Genauigkeit dem konventionellen Serumneutralisationstest überlegen ist, beweisen die Arbeiten von BINN et al. (1970): Während im Röhrchentest die Seren von 19 Hunden negativ reagierten, zeigten im Plaque-Reduktionstest 11 dieser Seren neutralisierende Antikörper, allerdings mit niedrigem Titer.

Da sich aber der Plaque-Reduktionstest weniger für die Routinediagnostik eignet und bei Verwendung des Serumneutralisationstest positive Reaktionen oft nur in niedrigen Serumverdünnungen auftreten, schlägt CARMICHAEL (1970) einen modifizierten Röhrchentest vor: Durch Komplementzugabe von 8 Einheiten/ml zur Virussuspension (bzw. 4 Einheiten nach Vermischen mit dem zu untersuchenden Serum) konnten Titer erzielt werden, die 2 bis 3 Stufen höher lagen als ohne Komplement.

Auch RATULD et al. (1967) hatten die Empfindlichkeit des Röhrchentests durch Komplementzusatz erhöht. Antiserum vom Hund

gegen Herpesvirus canis ergaben einen Neutralisationstiter von 1:32; die Zugabe von 8 Einheiten Komplement ließen ihn auf 1:512 ansteigen.

HUXSOLL et al. (1970) verglichen den herkömmlichen Serum-neutralisationstest (ohne C'-Zusatz) mit der KBR unter Verwendung von Seren 8 Monate alter Hunde, die mit 10^6 TCID₅₀ intratracheal und intranasal infiziert wurden. Im Gegensatz zu den neutralisierenden Antikörpern traten komplementbindende immer auf.

Natürliche oder experimentelle CHV-Infektionen anderer Tierarten wurden bisher nicht beschrieben. Durch Immunisierung von Meerschweinchen gelang es, virusneutralisierende Antikörper zu erzeugen (PERCY et al., 1970).

In Menschenseren konnten von LUNDGREN et al. (1969 b) CHV-neutralisierende Substanzen nachgewiesen werden, doch war keine eindeutige Abgrenzung gegenüber Herpes simplex-Virus möglich. Der Titer variierte im Plaque-Reduktionstest zwischen 1:5 und 1:20.

5.1.5. Klinisches Bild

a. Natürliche Infektion

1964 wurde erstmals eine tödlich endende, durch CHV verursachte Septikämie bei neugeborenen Hunden beschrieben (CARMICHAEL et al., 1964; 1965); als einziges Symptom erwähnte die Autorengruppe anhaltendes schmerzvolles Wimmern 8 bis 12 Stunden vor dem Tod. SCHWARTZ et al. (1966) beobachteten bei einigen in der ersten Lebenswoche erkrankten Welpen außerdem auffallende Schweratmigkeit, während CORNWELL et al. (1969) Mattigkeit, permanentes Wimmern und Saugunlust als erste Krankheitszeichen angaben. Die Tiere waren 7 bis 10 Tage p.p. erkrankt und 1 bis 2 Tage später gestorben; in anderen Fällen trat der Tod plötzlich und symptomlos oder nur unter Bauchschmerzen ein. Fieber wurde bei keinem Welpen festgestellt (CORNWELL et al., 1969).

Daß auch ausgewachsene Hunde unter natürlichen Bedingungen eine CHV-Infektion erleiden können, erwähnten 1966 MOTOHASHI et al. (1966); sie beobachteten Mattigkeit, Dyspnoe, hohes Fieber sowie schleimig-eitrigen Nasen- und Augenausfluß. Andererseits kann das Krankheitsbild durch paroxysmalen Husten, Tachypnoe und Anorexie gekennzeichnet sein (WRIGHT et al., 1970).

POSTE et al. (1971) isolierten CHV oder zumindest nahe verwandte Viren aus "pockenähnlichen" Läsionen der Genitalschleimhaut von Hündinnen und - da sich die Infektion als übertragbar erwies - aus unterschiedlich großen Bläschen auf Penis und Präputialschleimhaut von Rüden. Bei weiblichen Tieren ist oft ein rezidivierender Krankheitsverlauf charakteristisch, wobei sich die vesikulären Veränderungen in der Genitalschleimhaut während des Anöstrus zurückbilden, um mit Einsetzen des Proöstrus wieder aufzutreten. Eine Analyse der Zuchtleistung ergibt, daß die Häufigkeit der Graviditäten pro Paarung um die Hälfte und die Anzahl der Welpen pro Trächtigkeit von 9 auf 5,7 zurückgeht; außerdem kommen Aborte und Totgeburten auffallend häufig vor. - Auch an anderen Körperstellen werden CHV-bedingte Schleimhautbläschen gefunden, so im Rektum unmittelbar kranial des M. sphincter ani und im Konjunktivalsack am Übergang in die Membrana nictitans (POSTE et al., 1971).

b. Künstliche Infektion

Nach Infektionsversuchen beträgt die Inkubationsperiode durchschnittlich 1 Woche; sie variiert zwischen 3 bis 8 Tagen (CARMICHAEL et al., 1965; VAN DER LINDE-SIPMAN, 1971).

Bei 24 bis 36 Stunden alten Hunden stellen sich zwischen dem 3. und 7. Tag p.i. die ersten Krankheitszeichen mit weichen, geruchlosen und gelbgrünen Fäzes ein, später kommen Würgen und Erbrechen sofort nach der Futteraufnahme, Schmerzhaftigkeit im Abdominalbereich, schnelle und oberflächliche Atmung oder zeitweilige Atemnot sowie bei einigen Tieren mangelnde Bewegungskoordination, Mattigkeit, Petechien in der Haut der

Bauchgegend und in der Schleimhaut des Pharynx, Epistaxis und Gewichtsabnahme hinzu, bis schließlich die - immer afebril gebliebenen - Hunde 6 bis 9 bzw. 6 bis 16 Tage p.i. sterben (CARMICHAEL et al., 1965; KAKUK et al., 1969). CORNWELL et al. (1969) beobachteten oft Proteinurie. Durch intrazerebrale Verimpfung von CHV-Isolaten am 1. Lebenstag kann bei Welpen ausschließlich Meningoenzephalitis mit Ataxie, Hypersensibilität, Tremor und Konvulsionen hervorgerufen werden (HUXSOLL et al., 1970); CORNWELL et al. (1969) dagegen halten zentralnervöse Symptome, wie Ruderbewegungen mit den Gliedmaßen und Opisthotonus, nach intraperitonealer Inokulation für typische und regelmäßig auftretende Merkmale des bevorstehenden Todes.

Auf eine Korrelation zwischen Schwere des Krankheitsverlaufs und Lebensalter weisen die Versuche von RATULD et al. (1965) hin: 1 Woche alte Welpen erlagen zwischen dem 8. und 14. Tag p.i. der künstlichen Infektion, 1 Monat alte Hunde zeigten 3 bis 8 Tage p.i. Rhinitis, Tonsillitis und Anzeichen einer Bronchopneumonie. Während CORNWELL et al. (1969) bei 6 Wochen alten Hunden nach intraperitonealer oder oro-nasaler Infektion keinerlei klinische Symptome beobachteten, sondern erst durch konjunktivale Inokulation eine seröse Konjunktivitis mit Chemosis erzielten, konnten APPEL et al. (1969) den respiratorischen Krankheitsbefund bestätigen. Die von ihnen oro-nasal infizierten Junghunde zeigten Rhinitis, verbunden mit gelegentlichem Niesen.

Aus den geschilderten Befunden ergibt sich, daß eine CHV-Infektion bei neugeborenen Hunden fast immer letal verläuft, und zwar in der 1. bis 2. bzw. 1. bis 3. Lebenswoche, unabhängig von dem Infektionsmodus (HUXSOLL et al., 1970; CARMICHAEL et al., 1965). Ältere Hunde dagegen erkranken inapparent oder geringgradiger und zeigen dann in der Regel respiratorische Symptome (CARMICHAEL et al., 1965).

5.1.6. Pathologisches Bild

a. Neugeborene Welpen

Ein markanter Unterschied im pathologischen Bild soll zwischen natürlicher und experimenteller Infektion nicht bestehen (CORNWELL et al., 1969).

Äußere Besichtigung: Die Welpen befinden sich gewöhnlich in gutem Ernährungszustand. Bei einigen nach experimenteller Infektion gestorbenen Welpen konnte man Schaum in der Mundhöhle, subkutane Petechien sowie eine mit weichem, geruchlosen und gelbgrünen Kot verschmierte Analregion beobachten (CARMICHAEL et al., 1965).

In den Körperhöhlen sammelt sich als Zeichen einer generalisierten Schädigung des Blutgefäßsystems reichlich seröse oder serös-blutige Flüssigkeit an (WRIGHT et al., 1968; CORNWELL et al., 1966, 1969). Die Serosen weisen petechiale Blutungen auf (CORNWELL et al., 1966).

Respirationstrakt: Trachea, Brochien und Brochiolen enthalten Schaum oder blutig-schaumige Flüssigkeit (CARMICHAEL et al., 1965; CORNWELL et al., 1969). Die Lunge wirkt voluminös, ist im ganzen von festerer Konsistenz und zeigt auffallend rot-gelb-weißliches Aussehen (VAN DER LINDE-SIPMAN, 1971) bzw. Kongestion und Ödeme (CORNWELL et al., 1966; HUXTABLE et al., 1970). Disseminierte blasse bis hämorrhagische Herde durchsetzen das Lungenparenchym (PERCY, 1970). Nach WRIGHT et al. (1968) überwiegen 1 bis 5 mm (CARMICHAEL et al., 1965) messende graue Herdchen, die bis zu 1 cm großen, relativ festen, die Schnittfläche überragenden Bezirken konfluieren können und sich besonders häufig am Rand der Lungenlappen befinden. Subpleurale Ekchymosen sind nicht selten (CARMICHAEL et al., 1965).

Das Herz ist dilatiert und zeigt herdförmige - nicht näher beschriebene - Veränderungen (VAN DER LINDE-SIPMAN, 1971). Die Klappen sind geschwollen. Häufig sieht man subendokardiale Blutungen (CARMICHAEL et al., 1965).

Die Leber ist normal groß und hat fleckiges Aussehen (CARMICHAEL et al., 1965).

CHAEEL et al., 1965) oder ist mäßig geschwollen und hat eine blasse Oberfläche (HUXTABLE et al., 1970). Oftmals beobachtet man 1 bis 5 mm große herdförmige Veränderungen und Petechien (VAN DER LINDE-SIPMAN, 1971; CORNWELL et al., 1969). Die Gallenblase wirkt unverändert (CARMICHAEL et al., 1965). Die Nierenoberfläche weist graue oder rote, 2 bis 5 mm große Herde auf (WRIGHT et al., 1968). Hyperämische und hämorrhagische Bezirke setzen sich scharf vom umgebenden Gewebe ab (CARMICHAEL et al., 1965). Die charakteristischen subkapsulären und in der gesamten Nierenrinde verteilten Blutungen werden gelegentlich auch im Mark gefunden (CORNWELL et al., 1969). Mitunter sind sie keilförmig angeordnet, mit der Basis rinden- und mit der Spitze markwärts ausgerichtet (CARMICHAEL et al., 1965). Miliare Nekroseherde andererseits zeigen einen schmalen roten Hof (WRIGHT et al., 1968). Im Experiment werden diese Veränderungen mit der Zeit undeutlicher und können schließlich ganz verschwinden (CORNWELL et al., 1969).

Digestionstrakt: In allen Darmabschnitten sind subseröse Petechien und gelegentlich - nicht genauer beschriebene - Entzündungserscheinungen zu beobachten (CARMICHAEL et al., 1965; WRIGHT et al., 1968). SCHWARTZ u. MARTIN (1966) sahen hochgradige Blutungen in der Dünndarmwand und blutvermischten Darminhalt. Auch in der Magenschleimhaut lassen sich Hämorrhagien feststellen (CORNWELL et al., 1969).

Urogenitaltrakt: Manchmal können Petechien in Harnblase, Ovar, Salpinx und Uterus auftreten (CARMICHAEL et al., 1965).

Die Milz erscheint deutlich geschwollen (CARMICHAEL et al., 1965; PERCY, 1970), oft weist sie herdförmige Blutungen auf (WRIGHT et al., 1968).

Alle Lymphknoten sind vergrößert, hyperämisch und ödematös (CARMICHAEL et al., 1965; CORNWELL et al., 1966, 1969; VAN DER LINDE-SIPMAN, 1971).

b. Ältere Welpen und ausgewachsene Hunde

Bei experimentell infizierten 3 bis 6 Wochen alten Welpen sind manchmal graue Herde in der Lunge und den Nieren zu

finden (CORNWELL et al., 1969). RATULD u. WERNER (1965) sahen bei 1 Monat alten Hunden neben den pathologisch-anatomischen Hinweisen auf die klinisch festgestellte Rhinitis, Tonsillitis und Pneumonie eine mehr oder weniger ausgeprägte Hepatitis.

In Versuchen mit 5 bis 12 Wochen alten SPF-Hunden, die 2 bis 6 Tage p.i. getötet wurden, vermerkten APPEL et al. (1969) mittelgradige Hyperämie in der Schleimhaut der Turbinalien sowie schwache Rötung der Pharynxschleimhaut. Bei Hunden, die 3 bis 4 Tage p.i. seziiert wurden, waren die Tonsillen vergrößert.

In der Lunge ausgewachsener Hunde werden diffuse Ödeme und besonders im Spitzen- und Mittellappen rötliche, etwas festere - nicht eingehender beschriebene - Herde gesehen, die Trachea enthält blutig-schaumigen Schleim, auffallend sind die vergrößerten und hyperämischen Bronchial- und Mediastinallymphknoten (WRIGHT et al., 1970).

5.1.7. Histopathologisches Bild

Die mikroskopischen Veränderungen in verschiedenen Organen nach einer CHV-Infektion werden u.a. durch Kerneinschlußkörperchen (KEK) charakterisiert.

Intranukleäre Einschußkörperchen treten vor allem in den nekrotischen Zellen des Respirationstrakts, der Leber und in den Nierenglomerula auf (CARMICHAEL et al., 1965; PERCY, 1970). Oft sind sie nur schwer wahrnehmbar und können selbst bei hochgradigen Veränderungen fehlen (CORNWELL et al., 1969). Die ovalen, meist von einem basophilen Rand begrenzten Inklusionen lagern nahe der Kernwand. In der Regel färben sie sich homogen basophil an, gelegentlich aber auch schwach azidophil, oder weisen ein lichtbrechendes Zentrum auf (CARMICHAEL et al., 1965). PERCY (1970) beschreibt KEK, die kleiner als die bei sonstigen Herpesinfektionen zu beobachtenden Inklusionen vom Typ Cowdry A sind.

a. Neugeborene Welpen

Disseminierte Nekroseherde und Blutungen werden in verschiedenen Organen als typisches Merkmal sowohl bei einer natürlichen Infektion als auch nach experimenteller Inokulation angetroffen. Primär kommt es zu Nekrosen in den Wänden kleiner Blutgefäße und Kapillaren (CORNWELL et al., 1969). Als Folge beobachtet man Blutungen sowie Desintegration und partiellen oder vollständigen Strukturverlust des umgebenden Gewebes.

Respirationstrakt: Schon am 2. Tag p.i. treten in der Nasenschleimhaut unter Schwellung und Desquamation der Epithelzellen Nekrosen auf, die bis in die Submukosa reichen. In den Epithelzellen sind KEK festzustellen. Die Propria ist von Lymphozyten, Makrophagen und Leukozyten durchsetzt (WRIGHT et al., 1970 b).

Die Trachealschleimhaut erkrankter Welpen zeigt herdförmige Nekrosen, ausgedehnte Kongestionen, perivaskuläre Blutungen und hochgradige Ödeme (HUXTABLE et al., 1970; WRIGHT et al., 1968). Die fokale Pneumonie beginnt mit Schwellungen der interalveolären Endothelzellen und Nekrose der Alveolarepithelien, gefolgt von massiver fibrinöser Exsudation (WRIGHT et al., 1968).

CARMICHAEL et al. (1965) wiesen KEK in Alveolarepithelien und einigen interstitiellen Zellen nach.

In den Klappen und Vorkammern des Herzens werden herdförmige Nekrosen, Ödeme, Blutungen und Myolyse festgestellt (CARMICHAEL et al., 1965; VAN DER LINDE-SIPMAN, 1970).

Leber: Die scharf von der Umgebung abgesetzten Nekroseherde sind nach CARMICHAEL et al. (1965) häufiger in den Glissonschen Dreiecken lokalisiert, nach HUXTABLE et al. (1970) dagegen hauptsächlich zentrolobulär anzutreffen.

In der Peripherie der Nekroseherde zeigen die Leberzellen und die Kupfferschen Sternzellen gelegentlich schwachgefärbte eosinophile KEK (WRIGHT et al., 1968), während die Zellen des nichtgeschädigten Leberparenchyms basophile Inklusionen aufweisen (CARMICHAEL et al., 1965). HUXTABLE et al. (1970)

beobachteten keine intranukleären EK.

Niere: Nach CORNWELL et al. (1969) werden die schwersten Veränderungen in den Nieren gefunden; bis zu 2/3 der kortikalen Tubuli können zerstört sein. Anfangs bleiben die Veränderungen auf den subkapsulären Bereich beschränkt, aber sehr bald dehnen sie sich in die Tiefe der Rinde aus (WRIGHT et al., 1968). Im Gegensatz zu CARMICHAEL et al. (1965) fanden WRIGHT et al. (1968) - allerdings nur in einigen Fällen - kleine Nekroseherde auch in der oberen Markschiicht. Typisch ist die vollständige Nekrose der Tubulusepithelien; die Basalmembran bleibt jedoch meistens erhalten (WRIGHT et al., 1968). Sobald sich die multiplen Nekroseherde vergrößern, treten auch in den Glomerula degenerative Veränderungen auf (CORNWELL et al., 1969). Während CARMICHAEL et al. (1965) KEK fast regelmäßig in den nekrotischen Zellen der Glomerula feststellten, wiesen WRIGHT et al. (1968) solche Inklusionen häufiger in Tubulusepithelien nach.

Digestionstrakt: Im Darm ist die interstitielle Herdnekrose ein konstanter Befund; sie bleibt meistens auf den Basalteil der Dünndarmdrüsen und auf die Lamina propria beschränkt und wird manchmal von ausgeprägten Blutungen begleitet (WRIGHT et al., 1968; CARMICHAEL et al., 1965). WRIGHT et al. (1968) sahen ähnliche nekrotische Herde im Magen eines Welpen und KEK in den Epithelien der Darmdrüsen und der Magenmukosa. In der Milz kommt es zur Erythrophagozytose und Hyperplasie der Lymphfollikel (CARMICHAEL et al., 1965; VAN DER LINDE-SIPMAN, 1970), doch treten auch starke Blutungen mit Degeneration der Lymphfollikel und Nekrosen der netzartigen Retikulumzellen auf (WRIGHT et al., 1968). Verschiedentlich werden in den retikulären Makrophagen eosinophile oder basophile KEK beobachtet (WRIGHT et al., 1968).

Die Lymphknoten enthalten viele Lymphoblasten (über deren Lokalisation im vorliegenden Bericht nichts gesagt wurde), seltener dagegen vergrößerte Keimzentren (CARMICHAEL et al., 1965).

Die Nebennieren weisen herdförmige Koagulationsnekrosen auf,

die sich vom Mark bis in die mittlere Rindenschicht erstrecken (CARMICHAEL et al., 1965). Gelegentlich kann man in den nekrotischen Zellen eosinophile oder basophile KEK feststellen (WRIGHT et al., 1968).

Herdnekrosen werden auch im Netz (WRIGHT et al., 1968) und im Pankreas angetroffen (CARMICHAEL et al., 1965).

Auge: Bei einigen erkrankten Welpen sahen CARMICHAEL et al. (1965) in der Retina einseitig auftretende Ödeme und nekrotische Neurone. In etlichen retinalen Ganglienzellen traten kleine azidophile KEK auf. Diese Zellen zeigten deutliche Kernwandmargination. Die beobachteten leukozytären Infiltrationen in der Uvea und Retina bestanden aus Lymphozyten, Makrophagen und neutrophilen Granulozyten.

Nervensystem: Die histopathologischen Veränderungen im Zentralnervensystem bestehen nach PERCY et al. (1968), die eine detaillierte Darstellung des mikroskopischen Bildes geben, im wesentlichen aus einer disseminierten nichteitrigen Meningoenzephalomyelitis mit Destruktion der grauen und weißen Substanz sowie diffuser und herdförmiger Mikrogliosis. Am schwersten scheint die graue Substanz im Bereich des Hirnstammes (PERCY et al., 1968), anderen Angaben zufolge die Kleinhirnrinde (WRIGHT et al., 1968) geschädigt zu werden.

Infektionsversuche zeigen, daß die Veränderungen in den Spinal- und Sympathikusganglien, den Nervenstämmen sowie im Rückenmark, besonders in den Zervikalsegmenten, ähnlich wie im ZNS verteilt sind, unbeschadet dessen, ob das Virus auf oro-nasalem oder intraperitonealem Weg inokuliert wurde (PERCY et al., 1970).

b. Ältere Welpen und ausgewachsene Hunde

Die Infektion 3 bis 6 Wochen alter Hunde bedingt nach CORNWELL et al. (1969) nur geringgradige zelluläre Infiltrate in Lungen, Nieren und Konjunktiven. Weder Nekrosen noch KEK oder spezifische CHV-Antigene sind bei Welpen der betreffenden Altersstufen feststellbar.

Im Gegensatz zu früheren Beobachtungen (1968) beschreiben

WRIGHT et al. (1970) bei 6 Wochen alten Versuchshunden Nekrosen im Bronchiolarepithel mit nachfolgender Ausdehnung auf die umliegenden Alveolen sowie in der Nasenschleimhaut und in den Turbinalien. Eosinophile KEK werden, wenn auch spärlich, ausschließlich im Nasenbereich vorgefunden.

5 bis 12 Wochen alte SPF-Welpen zeigen 4 Tage p.i. lediglich in der Lunge Veränderungen. Neben mittelgradiger Zellproliferation im Interstitium werden vereinzelt Makrophagen und Schwellung der Alveolarepithelien verzeichnet. 12 bis 20 Tage p.i. treten peribronchioläre und perivaskuläre Herde mononukleärer Zellen hinzu (APPEL et al., 1969).

Bei ausgewachsenen Tieren kann eine Bronchopneumonie mit neutrophilem Exsudat in den Alveolen, Bronchiolen und Bronchien sowie mit peribronchialer Lymphozyten- und Plasmazelleninfiltration ermittelt werden (WRIGHT et al., 1970).

5.1.8. Pathogenese

Bei oro-nasal infizierten neugeborenen Welpen konnte mit Hilfe der Virustitration und der Immunfluoreszenz schon nach 24 Std. virales Antigen in der Nasenschleimhaut und im Epithel der Tonsillarkrypten nachgewiesen werden (CARMICHAEL, 1970). Bis zum 4. Tag p.i. gelang der Antigennachweis in den retikuloendothelialen Zellen der Lymphknoten und der Milz, danach schließlich in allen Eingeweiden (CARMICHAEL, 1970). Die höchsten Viruskonzentrationen ermittelte man jedoch in den Nebennieren, den Nieren, den Lungen, der Milz und der Leber (CARMICHAEL et al., 1965; PERCY, 1968).

Die oro-nasale Inokulation bei seronegativen, mehr als 2 Wochen alten Hunden bedingt eine inapparente Infektion oder geringgradige Rhinitis und Pharyngitis (CARMICHAEL, 1970). Oft fehlen aber jegliche Krankheitszeichen. Dennoch kann das Virus bis zu 2 Wochen lang aus der Nasenhöhle und dem Pharynx, gelegentlich sogar aus Kot und Harn isoliert werden (CARMICHAEL, 1970; HUXSOLL et al., 1970). In der Nasenhöhle wurde CHV gewöhnlich 1 Tag eher und 3 bis 4 Tage länger als im Pharynx

nachgewiesen. Manchmal stellte man das Virus auch in der Lunge sowie in den Retropharyngeal- und Bronchiallymphknoten fest (APPEL et al., 1969). Im Gegensatz zu APPEL et al. (1969) konnten KARPAS et al. (1968) virale Antigene außerdem im Trachealepithel, in den Mesenteriallymphknoten, in Milz, Leber und Niere ermitteln. CHV scheint sich aber hauptsächlich in der Nasenschleimhaut und in den Tonsillen zu vermehren (CARMICHAEL, 1970).

Die Geburt infizierter Welpen durch infizierte Hündinnen läßt auch in späteren Würfen Virusträger erwarten, doch berichteten CARMICHAEL (1965) und HUXSOLL et al. (1970), daß Muttertiere aus Hundekolonien, in denen die Krankheit enzootisch auftrat, nach 2 bis 3 Würfen gesunde Welpen aufzogen, was die Wirksamkeit maternaler Antikörper unterstreicht. Andererseits scheinen die maternalen Antikörper zwar vor tödlicher Erkrankung zu schützen, nicht aber vor inapparenter Infektion. Solche Befunde erklären das Vorkommen von CHV in Gewebekulturen klinisch gesunder Welpen (HUXSOLL et al., 1970).

Der natürliche Infektionsweg des Virus ist zur Zeit noch umstritten, doch scheint es, daß die Welpen diaplazentar, in dem Geburtsweg und durch Kontakt infiziert werden können (CORNWELL et al., 1969). Da STEWART et al. (1965) bei Welpen, die durch Kaiserschnitt von scheinbar normalen Muttertieren geboren wurden, CHV isolierten, kann dieser Befund als Beweis für eine transplazentare Infektion gewertet werden. Mit intravaginaler Inokulation trächtiger Hündinnen gelang es, Feten zu infizieren (CARMICHAEL, 1965). Danach war das Virus aus den Welpen und aus der Vagina, nicht aber aus dem Uterus und der Plazenta isolierbar, weshalb auf eine Infektion in dem Geburtsweg geschlossen wird. Außerdem erwähnt CARMICHAEL (1970), daß infizierte Welpen in einem Zeitraum von 1 bis 3 Wochen p.i. als Virusausscheider und -überträger auf Hunde

desselben Wurfes und ältere Tiere in Frage kommen. Da die pathologischen Veränderungen in einem solchen Fall zuerst in der Nasenschleimhaut auftreten, gilt die intranasale Infektion als sehr wahrscheinlich.

Disseminierte viszerale Veränderungen bei infizierten Welpen (CARMICHAEL et al., 1965), pockenähnliche Läsionen in der Genitalschleimhaut ausgewachsener Hunde (POSTE u. KING, 1971) sowie Virusisolierungen aus dem Harn eines 6 Wochen alten Hundes (THOMAS u. DITCHFIELD, zit. n. CARMICHAEL, 1970) und bei ausgewachsenen Hunden mit Erkrankungen der oberen Atemwege sprechen für eine hämatogene, wahrscheinlich an Leukozyten gebundene Virusausbreitung (CARMICHAEL, 1970). Allerdings kann eine Besiedlung zumindest des ZNS durch Herpesvirus canis über den nervalen Ausbreitungsweg nicht ausgeschlossen werden, seitdem mit der Fluoreszenz-Antikörper-Methode das Virus in Nerven und besonders im Trigeminusganglion festgestellt wurde (PERCY et al., 1968; 1970).

Nach Auswertung der vorliegenden Literatur (insbesondere der Arbeit von CARMICHAEL, 1970) kann die Pathogenese von Herpesvirus canis in einem Schema zusammengefaßt werden:

A. Erwachsene Hunde

Infektion durch Kontakt (aerogen und/
oder alimentär)

Primäre Virusvermehrung in: Nasenschleim-
haut

Tonsillen

Pharynx

Virämie

Sekundäre Virus-
vermehrung in:

Respirationstrakt ?

Genitaltrakt ?

Ausscheidung von:
infektiösem Mund-
und Nasensekret

sowie
infektiösem
Vaginal-
sekret

Latente
Infektion !
Inapparentes
Trägertum
(Dauer ?)

B. Junghunde (älter als 2 Wochen)

Infektion durch Kontakt (aerogen und/
oder alimentär)

Primäre Virusvermehrung in: Nasenschleim-
haut

Tonsillen

Pharynx

Virämie

Sekundäre Virus-
vermehrung in:

Respirationstrakt ?

Nieren ?

Leber ?

Ausscheidung von:
infektiösem Mund-
und Nasensekret

(1. Fortsetzung)

C. Welpen (bis zu einem Alter von 2 Wochen)

Infektion: diaplazentar

intravaginal während der Geburt

durch Kontakt (aerogen und/oder alimentär)



Primäre Virusvermehrung in: Nasenschleimhaut

Tonsillen

Pharynx

Virämie

Ausscheidung von:
infektiösem Mund-
und Nasensekret

?

Sekundäre Virusvermehrung in:

Respirationstrakt

Arteriolen, Venolen, Kapil-
laren

RES-Zellen von Milz, Leber,
Lymphknoten

Parenchymzellen in Leber, Niere,
Milz, Nebenniere

Lamina propria des Darmes

Meningen, Gehirn

Tod (5. bis 12. Tag p.i.)

Die Beobachtung, daß Welpen unter 2 Wochen schwer erkranken, während ältere Hunde lediglich geringgradige oder keine Krankheitssymptome zeigen, wurde durch CARMICHAEL (1970) und HUXSOLL et al. (1970) weitgehend abgeklärt:

Versuche mit Gewebekulturen ergaben, daß Herpesvirus canis nur in dem engen Temperaturbereich von 35° bis 37°C optimal wächst. Gesunde Welpen weisen aber 25 Stunden p.p. eine Körpertemperatur von $35,6^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ auf. An jedem folgenden Lebenstag steigt die Temperatur, bis mit dem 7. Tag eine Körpertemperatur von 38°C erreicht wird. Dennoch bleibt sie labil, mangelhaft regulierbar und stark von der Umgebungstemperatur abhängig. Wird ein neugeborener Welpe 60 Minuten lang Temperaturen von 1° bis 6°C ausgesetzt, sinkt die Rektaltemperatur auf 27°C ab. Erst im Alter von 3 Wochen erfolgt die Thermoregulation wie bei ausgewachsenen Hunden. - In den ersten 2 Lebenswochen befindet sich also der Welpe physiologischerweise im Temperaturbereich der optimalen Virusvermehrung, während erst bei älteren Welpen oder erwachsenen Hunden eine Temperatur von 39°C erreicht wird, die das Viruswachstum hemmt; dadurch werden die bei älteren Tieren auftretenden inapparenten CHV-Infektionen erklärt. Die bei ausgewachsenen Hunden beschriebene respiratorische Erkrankung wird darauf zurückgeführt, daß die Temperaturen in den Atemwegen relativ niedriger sind und so dem Virus günstigere Bedingungen verschafft werden.

Erzeugt man bei normalerweise widerstandsfähigen 4 bis 8 Wochen alten Hunden hypothermische Bedingungen, treten nach einer Infektion die für CHV charakteristischen klinischen und pathologisch-anatomischen Erscheinungen auf, im Gegensatz zu den ebenfalls infizierten, aber bei $21,1^{\circ}$ bis $22,2^{\circ}\text{C}$ gehaltenen gleichaltrigen Tieren. Andererseits können infizierte neugeborene Welpen länger am Leben gehalten werden, wenn ihre Körpertemperatur künstlich auf $38,4^{\circ}$ bis $39,5^{\circ}\text{C}$ erhöht wird.

Inwieweit neben der Körpertemperatur und der Thermoregulation noch weitere pathogenetische Faktoren für das Auftreten einer CHV-bedingten Erkrankung bei Hunden ausschlaggebend sind, ist noch ungewiß.

5.2. Eigene Untersuchungen

5.2.1. Material und Methode

Antikörper gegen Herpesvirus canis in Hundeseren wurden mit Hilfe des Serumneutralisationstests nachgewiesen, der im Prinzip wie bei den Enteroviren (s. Abschn. 4.2.1.) durchgeführt wurde.

Virusstamm

Herpesvirus canis F-205 V, vermehrt in Hundenierenzellkulturen. Der Virusstamm wurde vom Veterinary Virus Research Institute, New York State Veterinary College, Cornell University, Ithaca, USA, bezogen. Er wurde als virushaltige Gewebekulturflüssigkeit bei -70°C gelagert.

Hundeseren

Untersucht wurden 71 Hundeseren, die dankenswerterweise von der Medizinischen Veterinärklinik I der Universität Gießen zusätzlich zu den 400 in früheren Untersuchungen (s. S. 18) verwendeten Seren zur Verfügung gestellt wurden. Sie wurden nach Inaktivierung während 30 Minuten bei 56°C bis zum Gebrauch bei -30°C eingefroren.

Komplement

Als Komplement diente normales Serum gesunder, nicht trächtiger Meerschweinchen, das bei einer Verdünnung von 1:80 in 0,025 ml 2 komplementbindende Einheiten enthielt.

Zellkulturen

a. Lösungen

Für die Untersuchungen fanden die gleichen Lösungen wie im Abschnitt 4.2.1. Verwendung, nur wurde dem Zellanzuchtmedium (AM) 5 % und dem Erhaltungsmedium 2% Lammserum anstelle von Kälberserum zugesetzt.

b. Anzüchtungstechnik

Als Zellkultur wurde die permanente Hundenierenzelllinie MDCK

benutzt, die von der Fa. "Flow Laboratories", Rockville, USA, bezogen worden war.

Die Zellen wurden in einer Dichte von ca. 3×10^5 Zellen/ml in AM suspendiert und in Rouxflaschen ausgesät. Nach einer Bebrütungszeit von etwa 3 Tagen bei 37°C hatte sich ein geschlossener Zellrasen gebildet, der nun für die Gewinnung von Röhrchenkulturen in der gleichen Weise, wie bei den Enteroviren geschildert, behandelt wurde.

Virustitration

Herpesvirus canis F-205 V wurde in Röhrchenkulturen titriert. Vor Beimpfung der Kulturen wurde das AM gegen EM gewechselt. Anschließend verdünnte man das Virus in Zehnerpotenzen von 10^{-1} bis 10^{-6} , gab jeweils 0,2 ml von jeder Verdünnungsstufe in je 4 Röhrchen und inkubierte die Kulturen bis zum vollständigen virusbedingten Zellzerfall in den Endverdünnungen bei 37°C .

Die Titerendpunkte wurden nach der früher erwähnten Methode (s. Abschn. 4.2.1.) errechnet.

Der Titer des Virus schwankte zwischen $10^{-5,0}$ und $10^{-5,5}$
 $\text{TCID}_{50}/0,2 \text{ ml}$.

Abbildung 3 zeigt die zytopathischen Veränderungen in CHV-infizierten MDCK-Zellkulturen, Abbildung 4 den intakten Zellrasen einer nichtinfizierten Kontrolle.

Abb. 3: ZPE in MDCK-Zellkultur nach
CHV-Beimpfung

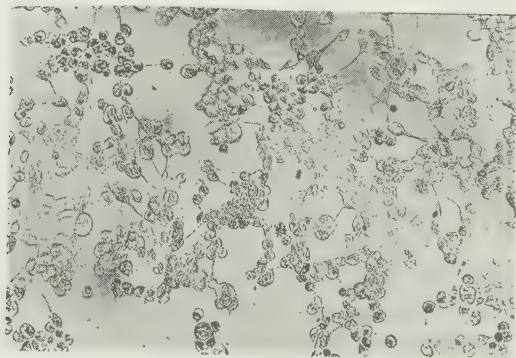
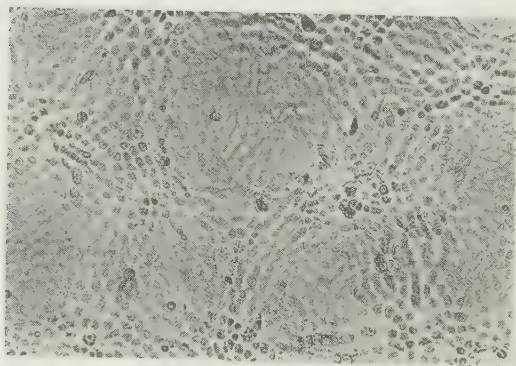


Abb. 4: MDCK-Zellkultur, unbeimpft
(Kontrolle)



Neutralisationstest (Vorversuch)

Von jedem Serum wurden 0,25 ml mit der gleichen Menge PBS gemischt (Verdünnung 1:2) und 30 Minuten bei 56°C inaktiviert. Den Serumverdünnungen wurde dann ein gleiches Volumen (0,5 ml) einer konstanten Virusverdünnung (100 TCID₅₀/0,2 ml) zugesetzt und zur Neutralisation 1 Stunde bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Anschließend wurden je 2 Röhrchenkulturen nach Entfernen des AM mit jeweils 0,4 ml der Serum-Virus-Gemische beimpft und zur Adsorption des nichtneutralisierten Virus 1 Stunde bei 37°C unter leichtem Schwenken auf einem Schaukelapparat vorinkubiert. Darauf wurden allen Röhrchen 2 ml EM zugesetzt. Die Ansätze wurden dann bis zur Beurteilung des Endresultats noch 4 bis 7 Tage weiter bebrütet.

Parallel dazu wurde eine Virustitration zur Überprüfung der infektiösen Einheiten mitgeführt.

Neutralisationstest (Hauptversuch)

a. Mit konstanter Serum- und variabler Virusverdünnung:

Herstellung einer Virusverdünnungsreihe von 10^{-1} bis 10^{-6} . Gleiche Volumina jeder Virusverdünnung wurden darauf mit gleichen Volumina einer konstanten inaktivierten Serumverdünnung (1:4) vermischt und 1 Stunde bei 37°C im Wasserbad gehalten. Nach Absaugen des AM beimpften wir je 4 Röhrchenkulturen mit jeweils 0,4 ml der einzelnen Neutralisationsgemische. Der weitere Untersuchungsgang entsprach der im Vorversuch beschriebenen Methode. Gleichzeitig wurde ein bekannt negatives Hundeserum in entsprechender Weise mitgeführt, um den Neutralisationsindex der positiven Seren ermitteln zu können.

b. Mit konstanter Serum- und variabler Virusverdünnung unter Zusatz von Komplement:

Herstellung einer Virusverdünnungsreihe von 10^{-1} bis 10^{-6} . Darauf wurden 0,25 ml der positiven Seren mit 0,25 ml PBS verdünnt, inaktiviert und anschließend mit 0,5 ml Komplementverdünnung (1:80) gemischt. Auf diese Weise entstand eine Serum-

ausgangsverdünnung von 1:4. Jeweils 0,5 ml dieses Serum-Komplementgemisches wurden mit je 0,5 ml der einzelnen Virusverdünnungen zusammengegeben und 1 Stunde im Wasserbad bei 37°C gehalten. Parallel dazu wurden zwei entsprechende Ansätze ohne Komplement mitgeführt, und zwar mit dem jeweils untersuchten Serum sowie mit Lammserum. Im weiteren entspricht der Versuchsablauf der vorher geschilderten Methode.

c. Mit variabler Serum- und konstanter Virusverdünnung:

Die Seren wurden jeweils von 1:4 bis 1:64 in Zweierpotenzen verdünnt. Gleiche Volumina der Serumverdünnungen mischten wir mit gleichen Volumina einer konstanten Virusverdünnung (ca. 100 TCID₅₀/0,2 ml).

Im weiteren entspricht der Versuchsablauf der vorher geschilderten Methode.

5.2.2. Ergebnisse der Untersuchungen

Um die mit Sicherheit negativen Seren zu eliminieren, wurde ein Vorversuch mit der Serumverdünnung 1:2 angesetzt. Von den insgesamt 71 untersuchten Seren zeigten nur 2 (2,8 %) eine vollständige Neutralisation der angebotenen Virusmenge. Nur von einem der beiden neutralisierenden Seren stand eine genügende Menge für weitere Untersuchungen zur Verfügung (Serum N 31).

Zur quantitativen Bestimmung des möglichen Antikörpergehaltes in dem Serum N 31 wurden verschiedene Neutralisationstests angesetzt, und zwar sowohl Versuche mit konstanter Serum- und variabler Virusverdünnung als auch mit variabler Serum- und konstanter Virusverdünnung. Dabei wurden folgende Ergebnisse erzielt:

a. Neutralisationsversuch mit konstanter Serumverdünnung (1:4) und variablen Virusverdünnungen (10^{-1} bis 10^{-6}):

Virustiter mit Zusatz von Serum N 31:	$10^{-3,5}$
Virustiter mit Zusatz von negativem Hundeserum:	$10^{-5,0}$

Der Neutralisationsindex $\log_{10}$ des Serums N 31 betrug demnach 1,5.

b. Neutralisationsversuch mit konstanter Serumverdünnung (1:4) und variablen Virusverdünnungen (10^{-1} bis 10^{-6}) mit Zusatz von Komplement:

Virustiter mit Zusatz von Serum N 31 mit Komplement:	$10^{-4,0}$
Virustiter mit Zusatz von Serum N 31 ohne Komplement:	$10^{-4,0}$
Virustiter mit Zusatz von Lammserum:	$10^{-5,0}$

Der Neutralisationsindex $\log_{10}$ des Serums N 31 mit und ohne Komplement betrug in diesem Versuch nur 1,0.

c. Im Neutralisationsversuch mit variabler Serumverdünnung und konstanter Virusdosis (ca. 100 TCID₅₀) neutralisierte das Serum N 31 die angebotene Virusmenge bis zu einer Verdünnung von 1:4.

5.2.3. Besprechung der Ergebnisse

Nach Infektionen mit Herpesvirus canis bei erwachsenen Hunden können Erkrankungen der Atemwege auftreten. Ähnliche durch Herpesviren hervorgerufene Krankheitsbilder wurden schon früher bei anderen Tierarten beobachtet (Rhinotracheitis der Rinder, Rhinopneumonitis der Pferde, Rhinotracheitis der Katze und Laryngotracheitis beim Geflügel). CHV-bedingte Schleimhautveränderungen im Genitaltrakt bei Hunden sind ebenfalls vergleichbar mit den Läsionen, die man nach Herpesvirusinfektionen bei Rindern (KENDRICK et al., 1958), Pferden (GIRARD et al., 1968) und beim Menschen (HUTFIELD et al., 1967) findet.

Antigenverwandtschaften zwischen Herpesvirus canis und anderen bekannten Viren der Herpesgruppe waren mit Hilfe des

Serumneutralisationstests bislang nicht nachzuweisen (CARMICHAEL et al., 1965 b; SPERTZEL et al., 1965; STEWART et al., 1965). Lediglich AURELIAN (1968) berichtete über Kreuzreaktionen zwischen CHV und Herpes simplex-Virus im Plaque-Reduktionstest, der relativ schwierig durchzuführen war, da sich CHV nicht in humanem Gewebe und Herpes simplex-Virus nicht in Hundenierenzellkulturen vermehrt.

Über die Durchseuchung der Hundepopulation in Gebieten, in denen Herpesvirus canis nachgewiesen wurde, liegen nur wenige Angaben vor. In den USA konnten CHV-Antikörper bei etwa 12 % der Hunde festgestellt werden (BINN, 1970; LUNDGREN et al., 1969).

Im eigenen Untersuchungsmaterial von insgesamt 71 Hundeseren ließen sich nur in 2 Fällen bei einer Verdünnung von 1:2 positive Virusneutralisationsreaktionen feststellen. Eines dieser beiden Seren konnte aus Materialmangel nicht ausgetriert werden, das andere zeigte lediglich noch bei einer Verdünnung von 1:4 einen schwach neutralisierenden Effekt. Die neutralisierende Aktivität dieses Serums konnte auch nach Komplementzugabe nicht gesteigert werden, was im Gegensatz zu den Beobachtungen anderer Autoren steht. Es ist daher kaum zulässig, diese Ergebnisse als spezifische CHV-Antikörperreaktionen zu deuten. Die Frage, ob spezifisch oder nichtspezifisch, bleibt auch dann offen, wenn auszuschließen wäre, daß es sich um Kreuzneutralisation zwischen CHV-Antigen und Antikörpern gegen andere Herpesviren, z.B. Herpes simplex, gehandelt hat. Es erscheint sinnvoll, Untersuchungen über das Vorkommen von Antikörpern gegen Herpesvirus canis bei Hunden mit empfindlicheren Methoden (Plaque-Reduktionstest und KBR) und in größerem Umfange gezielt fortzusetzen.

6. Zusammenfassung

1. 400 Hundeseren wurden in der KBR und HAH auf Antikörper gegen Paramyxoviren unter Verwendung von Mumps-, PI-1-(Sendai)-, PI-2(Greer, SV-5 bzw. Wagner)- und PI-3(HA-1 bzw. Rentschler)-Antigen untersucht. Insgesamt reagierten 51 (12,75 %) Seren positiv. 7 dieser Seren wiesen komplementbindende Antikörper gegen PI-1-, PI-2- und/oder PI-3-Antigen auf, 30 Seren zeigten ausschließlich HA-Hemmung und in 14 Fällen kam es gleichzeitig sowohl in der KBR als auch im HAH-Test zu positiven Reaktionen. Es reagierten positiv mit:

Mumpsantigen	im HAHT	2,5 %,	in der KBR	0 %
PI-1(Sendai)-Ag.		4,5		3,0
PI-2(Greer)-Antigen		1,25		1,25
PI-2(SV-5)-Antigen		0,25		-
PI-2(Wagner)-Ag.		1,0		-
PI-3(HA-1)-Antigen		4,0		2,25
PI-3(Rentschler)-Ag.		1,5		-

96 Menschenseren wurden vergleichend in der KBR und HAH mit Mumps-, PI-1(Sendai)-, PI-2(Greer)- und PI-3(HA-1)-Antigen untersucht. Insgesamt reagierten 77 (80,2 %) Seren positiv. 43 dieser Seren wiesen nur HA-hemmende Antikörper auf. Bei den übrigen Seren kam es gleichzeitig sowohl in der KBR als auch im HAH-Test zu positiven Reaktionen. Es reagierten positiv mit:

Mumpsantigen	im HAHT	27,0 %,	in der KBR	8,3 %
PI-1(Sendai)-Antigen		19,8		28,1 ⁺
PI-2(Greer)-Antigen		18,8		4,2
PI-3(HA-1)-Antigen		78,1		16,7

⁺ nur zum Teil untersucht

2. 73 der 400 Hundeseren wurden gleichzeitig auf Antikörper gegen Enteroviren (Echovirus Typ 6 und Typ 9) im SNT unter-

sucht. In 7 Fällen (9,7 %) konnte in Verdünnungen von 1:8 bis 1:32 Neutralisation des Echovirus 6 nachgewiesen werden. Kein Serum neutralisierte Echovirus 9.

3. Seren von 71 weiteren Hunden wurden auf Antikörper gegen Herpesvirus canis im NT unter Verwendung von Hundenierenzellkulturen untersucht. Zwei der ausgetesteten Seren zeigten bei einer Verdünnung von 1:2 vollständige Virusneutralisation. Die weitere Untersuchung eines Serums ergab bis zu einer Verdünnung von 1:4 einen schwach neutralisierenden Effekt, der auch durch Komplementzugabe nicht gesteigert werden konnte. Die festgestellten Reaktionen wurden nicht als spezifische CHV-Antikörpertiter gedeutet.

7. Literaturverzeichnis

1. Appel, M.J.G.
Menegus, M.
Parsonson, I.M.
Carmichael, L.E.
Pathogenesis of canine herpesvirus
in specific-pathogen-free dogs:
5- to 12-week-old pups
Amer. J. vet. Res. 30, 2067-2073
(1969)
2. Appel, M.J.G.
Percy, D.H.
SV-5-like parainfluenza virus
in dogs
J. Amer. vet. med. Ass. 156,
1778-1781 (1970)
3. Aurelian, L.
Demonstration by plaque reduction
technique of immunologic relation-
ship between canine herpes virus
and herpes simplex virus
Proc. Soc. exp. Biol. 127, 485-488
(1968)
4. Aurelian, L.
Replication of canine herpesvirus
I. Synthesis of viral deoxyribo-
nucleic acid
J. Virol. 4, 197-202 (1969)
5. Behrens, F.
Die Erkrankungen der Speicheldrü-
sen bei Tieren nach dem tierärzt-
lichen Schrifttum
Inaug. Diss. Gießen 1967
6. Binn, L.N.
A review of viruses recovered
from dogs
J. Amer. vet. med. Ass. 156,
1672-1677 (1970)

7. Binn, L.N. Viruses recovered from laboratory dogs with respiratory disease
Eddy, G.A.
Lazar, E.C.
Helms, J. Proc. Soc. exp. Biol. 126,
Murnane, T. 140-145 (1967)
8. Binn, L.N. A simple plaque procedure for comparing antigenic relationships of canine herpesvirus
Koughan, W.P.
Lazar, E.C. J. Amer. vet. med. Ass. 156,
1724-1725 (1970)
9. Binn, L.N. Upper respiratory disease in military dogs:
Lazar, E.C. Bacterial, mycoplasma and viral studies
Rogul, M.
Shepler, V.M.
Swango, L.J. Amer. J. vet. Res. 29, 1809-1815
Claypoole, T. (1968)
Hubbard, D.W.
Asbill, S.G.
Alexander, A.D.
10. Bittle, J.L. The epizootiology of canine para-influenza
Emery, J.B. J. Amer. vet. med. Ass. 156,
1771-1773 (1970)
11. Bonin, O. Infektionen durch Enteroviren

In: Die Infektionskrankheiten des Menschen und ihre Erreger, Bd. II, 1482-1539, Grumbach, A. und W. Kikuth, Thieme Verlag, Stuttgart (1969)

12. Carmichael, L.E. Herpesvirus canis: Aspects of pathogenesis and immune response
J. Amer. vet. med. Ass. 156,
1714-1721 (1970)
13. Carmichael, L.E. Effect of temperature on growth of canine herpesvirus in canine kidney cell and macrophage cultures
Barnes, F.D.
J. infect. Dis. 120, 664-668
(1969)
14. Carmichael, L.E. A fatal septicemic disease of infant puppies caused by cythopathogenic organisms with characteristics of mycoplasma
Fabricant, J.
Squire, R.A.
Proc. Soc. exp. Biol. 117, 826-833
(1964)
15. Carmichael, L.E. Clinical and pathologic features of a fatal viral disease of newborn pups
Squire, R.A.
Krook, L.
Amer. J. vet. Res. 26, 803-814
(1965)
16. Carmichael, L.E. Identification of a cytopathogenic agent infectious for puppies as a canine herpesvirus
Strandberg, J.D.
Barnes, F.D.
Proc. Soc. exp. Biol. 120, 644-650
(1965 b)

17. Chanock, R.M.
Johnson, K.M. Parainfluenza viruses
In: Diagnostic procedures for
viral and rickettsial diseases,
Third Edition, 470-486
Lennette, E.H. and N.Y. Schmidt,
Amer. Public Health Ass., New York
(1964)
18. Clapper, W.E. Comments on viruses recovered
from dogs
J. Amer. vet. med. Ass. 156,
1678-1680 (1970)
19. Cornwell, H.J.C. Neonatal canine herpesvirus infec-
Wright, N.G. tion: A review of present knowl-
edge
Vet. Rec. 84, 2-6 (1969)
20. Cornwell, H.J.C. Neonatal disease in the dog asso-
Wright, N.G. ciated with a herpes-like virus
Campbell, R.S.F. Vet. Rec. 79, 661-662 (1966)
Roberts, R.J.
21. Crandall, R.A. Isolation of a parainfluenza virus
Brumlow, W.B. from sentry dogs with upper respi-
Davidson, V.E. ratory disease
Amer. J. vet. Res. 29, 2141-2147
(1968)
22. Cuadrado, R.R. An epidemiological study on para-
influenza, DA and mumps virus in-
fections in animals in New England
Bull. Wld Hlth Org. 33, 803-808
(1965)

23. Dulbecco, R.
Vogt, M. Plaque formation and isolation
 of pure lines with poliomyelitis
 viruses
 J. exp. Med. 99, 167-182 (1954)
24. Gelfand, H.M. The occurrence and nature of the
 Coxsackie and Echo-viruses
 Progr. med. Virol. 3, 193-244
 (1961)
25. Gerth, H.J. Parainfluenzavirusinfektionen
 In: Die Infektionskrankheiten des
 Menschen und ihre Erreger, Bd. II,
 1409-1443, Grumbach, A. und
 W. Kikuth, Thieme Verlag, Stuttgart
 (1969)
26. Girard, A.
Greig, A.S.
Mitchell, D. A virus associated with vulvitis
 and balanitis in the horse -
 a preliminary report
 Canad. J. comp. Med. 32, 603-604
 (1968)
27. Grew, N.
Gohd, R.S.
Arguedas, J.
Kato, J.I. Enteroviruses in rural families
 and their domestic animals
 Amer. J. Epidem. 91, 518-526 (1970)
28. Guenov, Iv.
Pavlov, N. Study of parainfluenza virus type 1
 isolated from pigs
 Zbl. Vet. Med. 19, 437-444 (1972)

29. Hsiung, G.D. The use of agar overlay cultures
for detection of new virus iso-
lates
Virology 2, 717-719 (1959)
30. Hutfield, D.C. Immunological and epidemiological
Wasley, G.D. investigations of genital strains
Gray, E. of herpes simplex virus
Brit. J. vener. Dis. 43, 48-52
(1967)
31. Huxsoll, D.L. Clinical observations of canine
Hemelt, J.E. herpesvirus
J. Amer. vet. med. Ass. 156,
1706-1713 (1970)
32. Huxtable, C.R. Canine herpesvirus as a suspected
Farrow, B.R.H. cause of neonatal mortality in
puppies
Aust. vet. J. 46, 344-345 (1970)
33. Johnson, G.R. Effects of a pathogenic canine
Koestner, A. herpesvirus on established thyroid
Kindig, O. adenocarcinoma cell culture
Shadduck, J.A. Path. vet. 6, 289-308 (1969)
34. Kakuk, T.J. Isolation of a canine herpesvirus
Conner, G.H. from a dog with malignant lymphoma
Langham, R.F. Amer. J. vet. Res. 30, 1951-1960
Moore, J.A. (1969)
Mitchell, J.R.

35. Kaminjolo, J.S.
Paulsen, J.
Ludwig, H.
Serologische Untersuchungen über die Verteilung von Antikörpern gegen die Viren der Mucosal Disease, der infektiösen Rhinotracheitis bzw. pustulären Vulvovaginitis und der Parainfluenza-3 bei Rindern in Hessen
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 82, 161-163 (1969)
36. Karpas, A.
Garcia, F.G.
Calvo, F.
Cross, R.E.
Experimental production of canine tracheobronchitis (kennel cough) with canine herpesvirus isolated from naturally infected dogs
Amer. J. vet. Res. 29, 1251-1257 (1968)
37. Kendrick, J.W.
Gillespie, J.H.
McEntee, K.
Infectious pustular vulvovaginitis of cattle
Cornell Vet. 48, 458-495 (1958)
38. Kiseleva, N.V.
Berdyliev, O.M.
Domestic animals (dog and cat) as carriers of human intestinal viruses
Zh. Mikrobiol. (Mosk.) 48, 102 (1971)
In: Zbl. Bakt. I Ref. 231, 394 (1972)
39. Laver, W.G.
Webster, R.G.
Selection of antigenic mutants of influenza viruses.
Isolation and peptide mapping of their hemagglutinating proteins
Virology 34, 193-202 (1968)

40. van der Linde-
Sipman, J.S. Canine herpesvirus infection in
pups
T. Diergeneesk. 96, 265-271 (1971)
41. Lundgren, D.L. Neutralization of canine herpes-
Clapper, W.E. virus by dog and human serums:
A survey
Amer. J. vet. Res. 30, 479-482
(1969 b)
42. Lundgren, D.L. Isolation of human enteroviruses
Clapper, W.E. from beagle dogs
Sanchez, A. Proc. Soc. exp. Biol. 128,
463-467 (1968)
43. Lundgren, D.L. A serological survey in dogs for
Magnuson, M.G. antibody to human respiratory
Clapper, W.E. viruses
Lab. Anim. Care 19, 352-359 (1969)
44. Morris, J.A. Natural occurrence in dog serum
Blount, R.E. of antibodies against mumpsvirus
Mc-Cown, J.M. Cornell Vet. 46, 525-531 (1956)
45. Motohashi, T. Isolation of a herpesvirus from
Tajima, M. a diseased adult dog in Japan
Jap. J. vet. Sci. 18, 307-314
(1966)
46. Noice, F. Incidence of viral parotitis in
Bolton, F.M. the domestic dog
Eveleth, D.J. Amer. J. Dis. Child. 98, 350-352
(1959)

47. Parrott, R.H.
Vargosko, A.J.
Kim, H.W.
Bell, J.A.
Chanock, R.M.
III. Myxovirus: Parainfluenza
Amer. J. publ. Hlth. 52, 907
(1962)
zit. in: Die Infektionskrankheiten
des Menschen und ihre Erreger,
Bd. II, 1418, Grumbach, A. und
W. Kikuth, Thieme Verlag, Stutt-
gart (1969)
48. Percy, D.H.
Comments on canine herpesvirus:
pathogenesis and immun response
J. Amer. vet. med. Ass. 156,
1721-1724 (1970)
49. Percy, D.H.
Munnell, J.F.
Olander, H.J.
Carmichael, L.E.
Pathogenesis of canine herpesvirus
encephalitis
Amer. J. vet. Res. 31, 145-156
(1970)
50. Percy, D.H.
Olander, H.J.
Carmichael, L.E.
Encephalitis in the newborn pup
due to a canine herpesvirus
Path. vet. 5, 135-145 (1968)
51. Pindak, F.F.
Clapper, W.
Isolation of enteritic cytopatho-
genic human orphan virus type 6
from dogs
Amer. J. vet. Res. 25, 52-54
(1964)
52. Poste, G.
King, N.
Isolation of a herpesvirus from
the canine genital tract: asso-
ciation with infertility, abortion
and stillbirths
Vet. Rec. 88, 229-233 (1971)

53. Prydie, J.
Harrison, M.J.
Graham, J. Isolation of a canine herpes virus
Vet. Rec. 79, 660-661 (1966)
54. de Ratuld, Y.
Werner, G.H. Isolement d'un agent infectieux
de nature virale à partir de cul-
tures in vitro de cellules rénales
de Chien. Caractéristiques biolo-
giques et pouvoir pathogène pour
le Chien
C. R. Acad. Sci. (Paris) 261,
5725-5728 (1965)
55. de Ratuld, Y.
Werner, G.H. Le virus herpétique canin
Ann. Inst. Pasteur 112, 802-807
(1967)
56. Reed, L.J.
Muench, H. A simple method of estimating
fifty percent endpoints
Amer. J. Hyg. 27, 493-497 (1938)
57. Sandow, D.
Schmidt, J. Vorkommen hämagglutinationshemmen-
der Antikörper gegen Parainfluenza-
viren bei verschiedenen Tierspecies
Z. med. Mikrobiol. u. Immunol. 153,
233-249 (1967)
58. Sandow, D.
Spencer, F.B.
Schmidt, J. Untersuchungen über die Brauchbar-
keit des Hämagglutinationshemmungs-
test und der Komplementbindungs-
reaktion zum Nachweis von Sendai-
virus-Antikörpern
Z. ges. Hyg. 15, 598-602 (1969)

59. Schmidt, J. Untersuchungen über das Vorkom-
 Tauchnitz, Ch. men hämagglutinationshemmender
 Kühn, O. Antikörper gegen Parainfluenza-
 viren in der Bevölkerung
 Z. Hyg. Infekt.-Kr. 150, 163-178
 (1964)
60. Schwartz, W.L. Canine herpesvirus infection of
 Martin, W.D. puppies
 Vet. Med. Small Anim. Clin. 61,
 1171-1173 (1966)
61. Sever, J.L. Application of a micrtechnique
 to viral serological investiga-
 tions
 J. Immunol. 88, 320-329 (1962)
62. Spertzel, R.O. Recovery and characterization of
 Huxsoll, D.L. a herpes-like virus from dog kid-
 McConnell, S.J. ney cell cultures
 Binn, L.N. Proc. Soc. exp. Biol. 120,
 Yager, R.H. 651-655 (1965)
63. Stewart, S.E. Herpes-like virus isolated from
 David-Ferreira, J. neonatal and fetal dogs
 Lovelace, E. Science 148, 1341-1342 (1965)
 Landon, J.
64. Stone, A.B. Studies of mumps complement fixa-
 tion titers in dogs
 J. Small Anim. Fract. 10,
 555-561 (1969)

65. Strandberg, J.D.
Carmichael, L.E.
Electron microscopy of a
canine herpesvirus
J. Bact. 90, 1790-1792 (1965)
66. Wright, N.G.
Cornwell, H.J.C.
Experimental herpes virus infec-
tion in young puppies
Res. vet. Sci. 2, 295-299 (1968)
67. Wright, N.G.
Cornwell, H.J.C.
Further studies on experimental
canine herpesvirus infection in
young puppies
Res. vet. Sci. 11, 221-226
(1970 b)
68. Wright, N.G.
Cornwell, H.J.C.
Thompson, H.
Stewart, M.
Canine herpesvirus respiratory
infection
Vet. Rec. 87, 108-109 (1970)

Herrn Professor Dr. Th. Schliesser möchte ich für die Überlassung des Themas und seine fachliche Unterstützung herzlich danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. J. Paulsen für seine wertvollen Anregungen bei der Durchführung meiner Arbeit.

Die sorgfältige Erstellung der fotografischen Aufnahmen verdanke ich Fräulein I.-M. Schultze.

Lebenslauf

Am 17. August 1942 wurde ich, Wolfgang Heimann, als Sohn des Studiendirektors Willibald Heimann und seiner Frau Martha, geb. Wiese, in Schweidnitz/Schlesien geboren.

Von 1948 bis 1952 besuchte ich die 23. Grundschule in Dresden-Strehlen, anschließend die Langemaß-Schule in Köln-Mülheim. Ab 1954 war ich Schüler des Staatlichen Stiftsprogymnasiums in Xanten und ab Ostern 1960 des Staatlichen Dreikönigsgymnasiums in Köln. Dort bestand ich 1963 das Abitur.

Im Jahre 1967 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Justus Liebig-Universität Gießen. 1968 bestand ich den 1. Teil und 1969 den 2. Teil der Tierärztlichen Vorprüfung, 1970 den 1. Abschnitt, 1971 den 2. Abschnitt und im Sommersemester 1972 den 3. Abschnitt der Tierärztlichen Prüfung. Die Bestallung als Tierarzt erhielt ich mit Wirkung vom 1. September 1972.

Einleitung

Am 17. August 1944 wurde das Weibergelände in Berlin von
Kontrollkommissionen der Alliierten Besatzungsmächte und
dem Reichsamt für Wirtschaftsprüfung besichtigt.

Die Weibergelände sind in drei Teile unterteilt:
1. Weibergelände für die Weibergelände in Berlin
2. Weibergelände für die Weibergelände in Berlin
3. Weibergelände für die Weibergelände in Berlin

Die Weibergelände sind in drei Teile unterteilt:
1. Weibergelände für die Weibergelände in Berlin
2. Weibergelände für die Weibergelände in Berlin
3. Weibergelände für die Weibergelände in Berlin

